







THE LIBRARY  
OF  
THE UNIVERSITY  
OF CALIFORNIA  
DAVIS











# CENTRALBLATT

für

## Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

---

**Zweite Abteilung. 47. Band**





# Centralblatt

# Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

## Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie,  
Gärungsphysiologie,  
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz**

**In Verbindung mit**

**Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. O. Appel, Biologische Anstalt zu Berlin-Dahlem, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. J. Behrens, Direktor der biologischen Anstalt zu Berlin-Dahlem, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Alb. Klöcker, extr. Vorsteher, Carlsberg-Laboratorium in Kopenhagen, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-Castle-upon-Tyne, Prof. Dr. Samuel C. Prescott in Boston, Dr. Rommel in Berlin, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. van Laer in Gand, Prof. Dr. C. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in Petersburg**

**herausgegeben von**

Geh. Reg.-Rat  
Prof. Dr. Oscar Uhlworm und Prof. Dr. F. Löhnis  
in Berlin in Washington D. C.

## 47. Band

**Mit 34 Abbildungen im Text**



Jena  
Verlag von Gustav Fischer  
1917

UNIVERSITY OF CALIFORNIA  
LIBRARY  
COLLEGE OF AGRICULTURE  
DAVIS

Original from  
UNIVERSITY OF CALIFORNIA





# Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 47. No. 1/9.

Ausgegeben am 6. Dezember 1916.

*Nachdruck verboten.*

## Die Bakterienflora von frischen und benutzten Streumaterialien, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Einwirkung auf Milch.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium der Eidg.  
Technischen Hochschule in Zürich. Vorstand: Prof. Dr. M. Duggeli.]

Von Richard Kürsteiner.

Inhaltsangabe.	Seite
Einleitung . . . . .	2
I. Teil. <b>Untersuchungstechnik</b> . . . . .	3
1. Die Untersuchung der frischen Streuproben . . . . .	3
2. Die Untersuchung der benutzten Streuproben . . . . .	4
3. Die Untersuchung der mit frischem Streumaterial geimpften frischen und sterilisierten Milchproben . . . . .	5
4. Die Untersuchung der mit benutztem Streumaterial geimpften frischen und sterilisierten Milchproben . . . . .	5
II. Teil. <b>Die Streumaterialien im einzelnen</b> . . . . .	7
1. <b>U n t e r s u c h u n g e n a n S t r o h</b> . . . . .	7
A. Bisherige Forschungsergebnisse . . . . .	7
B. Untersuchung einzelner Strohproben . . . . .	8
C. Einwirkung von frischem und benutztem Stroh auf frische und sterili- sierte Milch. . . . .	23
a) Versuche mit Strohprobe No. 6 . . . . .	23
b) Versuche mit Strohprobe No. 17 . . . . .	31
2. <b>U n t e r s u c h u n g e n a n S c h w a r z s t r e u</b> . . . . .	43
A. Einleitung und bisherige Forschungsergebnisse . . . . .	43
B. Die Untersuchung einzelner Schwarzstreuproben . . . . .	43
C. Einwirkung frischer und benutzter Schwarzstreu auf frische und sterili- sierte Milch . . . . .	59
a) Versuche mit Schwarzstreuprobe No. 2 . . . . .	59
b) Versuche mit Schwarzstreuprobe No. 23 . . . . .	68
D. Die Untersuchung einzelner Riedstreuproben . . . . .	80
3. <b>U n t e r s u c h u n g e n a n L a u b</b> . . . . .	82
A. Einleitende Gedanken und bisherige Forschungsergebnisse . . . . .	82
B. Die Untersuchung einzelner Laubproben. . . . .	83
C. Einwirkung frischer und benutzter Laubstreu auf frische und sterili- sierte Milch. . . . .	95
a) Versuche mit Laubprobe No. 16 . . . . .	95
b) Versuche mit Laubprobe No. 17 . . . . .	103
4. <b>U n t e r s u c h u n g e n a n S ä g e m e h l</b> . . . . .	113
A. Bisherige Forschungsergebnisse . . . . .	113
B. Untersuchung einzelner Sägemehlproben . . . . .	113
C. Einwirkung frischen und benutzten Sägemehles auf frische und sterili- sierte Milch. . . . .	117
a) Versuche mit Sägemehlprobe No. 6 . . . . .	117
b) Versuche mit Sägemehlprobe No. 10 . . . . .	125
5. <b>U n t e r s u c h u n g e n a n M ü h l e n s t a u b</b> . . . . .	133
A. Bisherige Forschungsergebnisse . . . . .	133
B. Untersuchung einzelner Mühlenstaubproben . . . . .	134
C. Einwirkung frischen und benutzten Mühlenstaubes auf frische und steri- lisierte Milch . . . . .	140

Zweite Abt. Bd. 47.

1

	Seite
a) Versuche mit Mühlenstaubprobe No. 1 . . . . .	140
b) Versuche mit den Mühlenstaubproben No. 2 und No. 4 . . . . .	144
6. Untersuchungen an Torfstreu . . . . .	151
A. Einleitende Gedanken und bisherige Forschungsergebnisse . . . . .	151
B. Untersuchung einzelner Torfstreuproben . . . . .	152
C. Einwirkung frischer und benutzter Torfstreu auf frische und sterili-	
sierte Milch. . . . .	161
a) Versuche mit Torfstreuprobe No. 9. . . . .	161
b) Versuche mit Torfstreuprobe No. 20 . . . . .	168
7. Die Mikroflora der Exkrement-Emulsionen. . . . .	176
8. Die Mikroflora der frischen Milchproben . . . . .	179
9. Schlußsätze . . . . .	183
Literatur . . . . .	188

### Einleitung.

Die Forschungen auf dem Gebiete der landwirtschaftlichen Bakteriologie haben in den letzten Jahren einen ungewöhnlichen Aufschwung genommen und manche bis anhin schwebende Frage dieses Wissenszweiges ist ihrer Lösung näher gerückt. Sind die Untersuchungen in gewissen Richtungen, so beispielsweise die Arbeiten über die Mikroflora des Bodens, des Düngers, der Milch und der damit im Zusammenhang stehenden Umsetzungen der betreffenden Substrate, in ausgedehnterem Maße vorhanden, so begegnen wir in der einschlägigen Literatur relativ wenig Abhandlungen, die uns die Kenntnis der Mikroflora von Futtermitteln oder Streumaterialien vermitteln.

Daß die Kenntnis der Mikroflora der Streumaterialien nicht nur ein wissenschaftliches Interesse beansprucht, sondern auch praktischen Wert haben kann, wird uns namentlich dann offenkundig, wenn sich die Untersuchungen auch über die Frage des Einflusses, den die streubewohnenden Bakterien bei ihrer Übertragung in die Milch auf diese ausüben, erstrecken. Verunreinigungen von Konsum- oder Käseimilch mit Partikelchen von frischen oder benutzten Streumaterialien können in jedem bäuerlichen Betriebe, sei es während des Melkaktes, sei es beim Einstreuen oder bei sonstiger Gelegenheit, vorkommen. Es liegt somit sehr im Interesse eines rationellen Molkereibetriebes, zu wissen, ob solche Vorkommnisse imstande sind, in der Milch Umsetzungen günstiger oder ungünstiger Art hervorzurufen.

Nach dieser Richtung Klarheit zu verschaffen, ist ebenfalls Aufgabe und Zweck dieser Arbeit.

Die Art der in der Landwirtschaft zur Verwendung kommenden Streumaterialien ist eine sehr verschiedene. Neben den Produkten des Ackerlandes (Stroh, Spreu, Stoppeln, Kartoffelkraut usw.) werden diejenigen bestimmter Wiesen (Riedheu, schlecht gewittertes Magerheu usw.), des Waldes (Waldstreu), der Moore (Torfstreu), oder Abfälle und Nebenprodukte der Industrie (Mühlenstaub, Sägemehl, Gerberlohe) und der Landwirtschaft (Laub, Kehrlicht), sowie die Erträge der eigentlichen Streuwiesen (Schwarzstreu) zum Gebrauche herangezogen.

Von den hauptsächlichsten, in der Schweiz zur Verwendung gelangenden Streumaterialien, wie Stroh, Schwarzstreu, Torfstreu, Sägemehl, Laub und Mühlenstaub, wurden in vorliegender Arbeit eine Anzahl Proben verschiedener Herkunft (ca. 15—20) bakteriologisch geprüft. Mit je 2 Proben einer Streuart wurden Versuche eingeleitet und durchgeführt, die feststellen sollten, in welcher Weise frische oder benutzte Streu beim Verbringen in frische und sterilisierte Milch, unter Berücksichtigung verschiedener Zeiten und Temperaturen, dieses Nahrungsmittel beeinflussen können.

## I. Teil: Untersuchungstechnik.

### 1. Die Untersuchung der frischen Streuproben.

Sämtliche zur Verarbeitung gelangenden frischen Streuproben, die uns sowohl von Händlern wie von Privaten, teils aus dem Auslande, namentlich aber aus der Schweiz, zugesandt oder persönlich von uns an Ort und Stelle entnommen wurden, kamen bis zum Zeitpunkt ihrer Untersuchung in sterilisierten Papiersäcken, sogenannten gelben Mustersäcken, in einem trockenen Schranke des Laboratoriums bei Zimmertemperatur zur Aufbewahrung. Um den Prozentsatz der Kontaktinfektionen, hervorgerufen durch ungünstiges, d. h. unsauberes Verpackungsmaterial, möglichst herabzudrücken, haben wir jeweils von uns aus den Absendern der Streuproben die nötige Anzahl der oben erwähnten keimfreien Mustersäcke zur Verfügung gestellt, so daß alle eingegangenen Proben unter gleichen Versand- und Aufbewahrungsbedingungen standen.

Das Anlegen der Kulturen aus frischem Streumaterial ging folgendermaßen vor sich: Von der zu untersuchenden Streuprobe wurden 4 g in einem sterilisierten Uhrschildchen abgewogen und im ausgeflammtten Porzellantiegel mit 400 ccm sterilem Wasser vermengt und gut zerrieben. Bei Stroh und Schwarzstreu erleichterte die vorherige Zerschneidung des Materials vermittelt einer abgeflammtten Schere zu kleinen Häckseln die Verarbeitung wesentlich. 1 ccm der so hergestellten Emulsion repräsentierte die Verdünnung  $\frac{1}{100}$  g. Davon ausgehend, war es ein Leichtes, durch weiteres Verdünnen mit der 10- oder 100 fachen Menge sterilen Wassers die Verdünnungen  $\frac{1}{1000}$ ,  $\frac{1}{10000}$  usw. herzustellen. Dies geschah durch Übertragen von je 1 ccm der Emulsion oder Verdünnung vermittelt steriler Pipette in Erlenmeyerkölbchen, die mit 99 ccm keimfreien Wassers gefüllt waren.

Auf diese Weise war es möglich, die zur Verwendung gelangenden Nährböden mit den von uns gewünschten dezimalen Bruchteilen von Grammen der betreffenden Streu zu beschicken.

Ausgehend von den Erfahrungen, die Dr. Wigger bei seinen in unserem Laboratorium durchgeführten Untersuchungen über Futtermittel gemacht hatte, erachteten wir folgende Nährböden als für unsere Zwecke am besten dienlich:

1. Gewöhnliche Gelatine, (Nährgelatine oder Fleischwasserpeptongelatine).
2. Gewöhnlicher Agar (Nähragar oder Fleischwasserpeptonagar).
3. Milchzuckeragar, mit einem Gehalte von 2 Proz. Milchzucker.

Gelatine und gewöhnlicher Agar dienten zur Herstellung von Plattenkulturen, während der Milchzuckeragar, als sogenannte hohe Schichtkultur nach Burri, zum Nachweis von Anaëroben Verwendung fand. Die Aufbewahrung der geimpften Gelatineplatten erfolgte bei 20° C, diejenige der Agarplatten im Thermostaten von 30° und die der Milchzuckeragar hohen Schichtkulturen bei 37° C. Nach 5—7 Tagen nahmen wir die Untersuchung vor.

Die Herstellung der verwendeten Nährböden setzen wir als allgemein bekannt voraus und wollen nur erwähnen, daß zur Gewinnung des notwendigen Fleischabsudes fettfreies, feingehacktes Rindfleisch herangezogen wurde

1\*



und die Neutralisation der Nährböden mittels Kalilauge so weitgehend zur Durchführung gelangte, bis eingetauchtes Curcupapier sich deutlich braunrot zu färben begann.

## 2. Die Untersuchung der benutzten Streuproben.

Unter benutzter Streu im landläufigen Sinne des Wortes verstehen wir im allgemeinen ein solches Einstreumaterial, das zur Trockenhaltung des Lagers von Tieren Benutzung gefunden hat und dadurch in mehr oder weniger starkem Maße durch Exkremente, Kot und Harn, verunreinigt wurde. Bei den einzelnen Streumaterialien kann die Art und Weise, sowie der Grad der Verunreinigung sehr verschieden sein. Beispielsweise wird ein bestimmtes Quantum trockenes Sägemehl, oder auch Torfmull, infolge des großen Wasseraufsaugungsvermögens erheblich mehr Feuchtigkeit aufnehmen können, als es beim feuchten Stroh, Laub oder Nadelstreu möglich ist. Während bei Sägemehl und Torfstreu zufolge Eindringens der Flüssigkeiten und der darin gelösten Stoffe in die porösen pflanzlichen Massen, sowie in die zwischen den Einstreupartikeln sich findenden kapillaren Hohlräume eine innige Vermischung der Streu mit den Exkrementen erfolgt, so sind bei feuchtem Stroh, Laub und Nadelstreu die Verunreinigungen des Materials mehr äußerlicher Natur; das in den Pflanzenzellen, wie auch in den kapillaren Hohlräumen schon teilweise befindliche Wasser setzt den eindringenden Flüssigkeiten Widerstand entgegen, weshalb Harn und weiche Kotpartikelchen mehr an der Oberfläche der Einstreumaterialien haften bleiben.

Aus den erwähnten Gründen haben wir davon abgesehen, willkürlich Proben „benutzter Streu“ direkt im Stalle zu entnehmen und zu untersuchen. Da zudem für unsere Zwecke die separate Kenntnis der Mikroflora der Einstreu einerseits, der Exkremente andererseits absolut notwendig erschien, bedingte dies vorerst auch eine getrennte Untersuchung der in Betracht fallenden Stoffe, der erst nachher diejenige des Gemisches auf dem Fuße folgte.

Um dieses Ziel zu erreichen, wurde ein beliebiges Quantum frischen Kotes und Harnes gesondert in sterilen Bechergläsern, die man mit Wattepfropfen verschloß, direkt bei der Ausscheidung durch die Tiere (Braunviehkühe der landwirtschaftlichen Schule Strickhof bei Zürich) aufgefangen und zur Verarbeitung in das Laboratorium verbracht.

Nach den Untersuchungen von *Henneberg* und *Stohmann* betrug die von Ochsen ausgeschiedene Menge der Exkremente (Kot und Harn) für 1000 kg Lebendgewicht pro Tag bei Beharrungsfutter (d. h. einem Futter, bei welchem die Tiere an Lebendgewicht weder zu- noch abnehmen) in frischem Zustande für Kot 42,2 kg und für Harn 18,2 kg; es stellte sich somit das Verhältnis von Kotmenge: Harnmenge wie 7 : 3. Je nach der Tierart und der Fütterungsweise (Grün- oder Trockenfutter) wird dieses Mengenverhältnis einige Modifikationen erfahren, die wir nicht berücksichtigen konnten, sondern uns stets an besagte Mittelwerte hielten.

Durch Vorversuche hatten wir festgestellt, daß zum Aufsaugen der Flüssigkeit eines 95 g schweren, nach unserem Verfahren hergestellten Kot-Harn Gemisches ca. 3—5 g Streumaterial benötigt werden. Je trockener und poröser das zu diesem Zwecke verwendete Streumittel war, desto geringer war die Menge, die aufgewendet werden mußte, um zum oben erwähnten Ziele zu gelangen.

Gestützt auf diese Vorversuche, stellten wir durch Mischung von 95 g Exkrememente-Emulsion mit 3—5 g Streu unsere sogenannte „benutzte Streu“ her. Die auf genannte Art und Weise gewonnene benutzte Streu wurde bei 20° C aufbewahrt und gelangte nach 12, bzw. nach 24 und 48 Stunden zur bakteriologischen Untersuchung. 5 g der frischen Exkrememente-Emulsion benutzten wir für ihre bakteriologische Prüfung, bzw. zur Herstellung der notwendigen Verdünnungen für das Impfen der Nährböden.

### 3. Die Untersuchung der mit frischem Streumaterial geimpften frischen und sterilisierten Milchproben.

Um die Wirkung frischer Streu auf frische und sterilisierte Milch konstatieren zu können, gingen wir folgendermaßen vor:

Die aus dem Gutsbetriebe der landwirtschaftlichen Schule Strickhof bei Zürich stammende frische Milch war jeweils eine Mischmilch von 10 Kühen; sie wurde in sterilisiertem Glaskolben sofort nach dem Melken in das Laboratorium verbracht und hier auf Gelatineplatten, Agarplatten und Milchzuckeragar hohe Schicht verarbeitet, um die darin enthaltene Mikroflora kennen zu lernen. Je 100 ccm dieser Milch wurden dann in eine Anzahl steriler Erlenmeyer-Kölbchen von 150 ccm Inhalt gegeben. In gleicher Weise hatten wir schon am vorhergehenden Tage Erlenmeyer-Kölbchen mit 100 ccm einer während  $\frac{3}{4}$  Stunde bei  $\frac{1}{2}$  Atmosphäre Überdruck sterilisierten Milch bereit gestellt. Sowohl die frischen, als auch die sterilisierten Milchproben wurden entweder mit  $\frac{1}{10}$ , oder aber mit  $\frac{1}{100}$  g Streumaterial gleicher Herkunft geimpft, die eine Versuchsreihe zu 12° C (ungefähre Temperatur der gekühlten Milch), die andere zu 18° C (Stalltemperatur) gestellt, und wir vollzogen die bakteriologische Untersuchung bei der Parallelprobe nach 24 Stunden, bei der anderen Probe aber erst dann, wenn sich in der Milch deutliche makroskopische Veränderungen bemerkbar machten, was jeweils nach einigen Tagen der Fall zu sein pflegte. Es gelangten so viele Proben zur Aufstellung, daß jede nur einmal zur Untersuchung herangezogen werden mußte.

### 4. Die Untersuchung der mit benutztem Streumaterial geimpften frischen und sterilisierten Milchproben.

In gleicher Weise wie bei der Impfung frischer Streu in frische und sterilisierte Milchproben, gingen wir bei der Verwendung von sogenannter benutzter Streu zu Werke.

Vorerst wurde nach dem in einem früheren Abschnitte besprochenen Verfahren ein Gemisch von Streu und Exkrememente-Emulsion hergestellt, von dem entweder  $\frac{1}{10}$  oder dann  $\frac{1}{100}$  g zur Impfung der frischen und sterilisierten, je 100 ccm umfassenden Milchproben dienten. Die Aufbewahrungstemperaturen und Untersuchungszeiten waren die gleichen, wie sie im vorigen Abschnitte angegeben sind.

Von den frischen, ungeimpften Milchproben sowohl, wie von den geimpften frischen und sterilisierten Milchproben wurde in allen Fällen der Säuregrad bestimmt, und zwar nach folgendem Verfahren:

20 ccm Milch werden in einem Becherglas mit 80 ccm destillierten Wassers gut vermengt und mit 2 ccm einer 2 Proz. alkoholischen Phenolphthaleinlösung versetzt. Dann läßt man unter stetem Bewegen der Bechergläser



aus einer Bürette solange  $n/10$  Natronlauge zur Mischung hinzufließen, bis eine deutliche Rosafärbung der Milch auftritt. Die verbrauchte Anzahl  $ccm$   $n/10$  NaOH bezeichnen wir direkt als „Säuregrad“.

Die in dieser Arbeit vorkommenden Angaben über den Säuregrad geimpfter Milchproben sind die nach obigem Verfahren direkt ermittelten Zahlen, ohne Abzug des Säuregrades der ungeimpften Milch.

Im fernerem zogen wir zur Vervollständigung des Untersuchungsergebnisses die Geruchs- und Geschmacksprobe bei der Milch heran; auch das jeweils angefertigte Präparat im hängenden Tropfen mußte hilfreiche Dienste erweisen.

Die in diesem Abschnitt der Arbeit zur Durchführung gelangten Untersuchungen möchten wir hier, der Übersicht halber, in folgendes Schema zusammenfassen:

No.	Probe	Aufbewahrungs-Temperatur	Zeitpunkt der Untersuchung
I.	Frishes Streumaterial		Sofort
II.	Exkrement-Emulsion (Kot + Harn)		Sofort
III.	Streumaterial + Ex.-Emulsion (benutzte Streu)	18—20°	a) Nach 12 Std. b) Nach 24 Std. c) Nach 48 Std.
IV.	Streumaterial + Ex.-Emulsion + Sterilisierte Milch	$\left\{ \begin{array}{l} 12^{\circ} \\ 18^{\circ} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} a) \text{ Nach } 12 \text{ Std.} \\ b) \text{ Nach } 24 \text{ Std.} \\ c) \text{ Nach } 48 \text{ Std.} \\ d) \text{ Nach } 12 \text{ Std.} \\ e) \text{ Nach } 24 \text{ Std.} \\ f) \text{ Nach } 48 \text{ Std.} \end{array} \right.$
V.	Frishes Milch	18°	Nach 2 Std.
VI.	Streumaterial + Ex.-Emulsion + Frishes Milch	$\left\{ \begin{array}{l} 12^{\circ} \\ 18^{\circ} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} a) \text{ Nach } 12 \text{ Std.} \\ b) \text{ Nach } 24 \text{ Std.} \\ c) \text{ Nach } 48 \text{ Std.} \\ d) \text{ Nach } 12 \text{ Std.} \\ e) \text{ Nach } 24 \text{ Std.} \\ f) \text{ Nach } 48 \text{ Std.} \end{array} \right.$
VII.	Streumaterial + Frishes Milch	$\left\{ \begin{array}{l} 12^{\circ} \\ 18^{\circ} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} a) \text{ Nach } 24 \text{ Std.} \\ b) \text{ Nach makrosk. Verändg.} \\ c) \text{ Nach } 24 \text{ Std.} \\ d) \text{ Nach makrosk. Verändg.} \end{array} \right.$
VIII.	Streumaterial + Sterilis. Milch	$\left\{ \begin{array}{l} 12^{\circ} \\ 18^{\circ} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} a) \text{ Nach } 24 \text{ Std.} \\ b) \text{ Nach makrosk. Verändg.} \\ c) \text{ Nach } 24 \text{ Std.} \\ d) \text{ Nach makrosk. Verändg.} \end{array} \right.$

Die Untersuchung einer Art von Streumaterial erstreckte sich auf eine stattliche Zahl von Proben verschiedener Herkunft; so wurden bakteriologisch geprüft bei Stroh 24, Schwarzstreu 23, Riedstreu 4, Torfstreu 25, Laub 16, Sägemehl 14 und bei Mühlenstaub 24 Proben.

Von diesen geprüften Mustern wurden jeweils 2 Proben, die sich einerseits durch die Mannigfaltigkeit der Arten der Bakterien, oder andererseits durch das intensive Auftreten einer physiologisch besonders interessanten Spaltpilzspezies (Gasbildner, Fäulnisbakterien) auszeichneten, herausgelesen und damit der 25 Einzelversuche umfassende kombinierte Versuch von Streu + Exkrement-Emulsion + frische oder sterilisierte Milch in

den im Schema angegebenen Variationen durchgeführt. Im Kapitel Mühlenstaub sind wir Zeitmangels wegen von dieser Direktive etwas abgewichen, indem einzelne Versuche weggelassen wurden.

## II. Teil:

### Die Streumaterialien im einzelnen.

#### 1. Untersuchungen an Stroh.

##### A. Bisherige Forschungsergebnisse.

Von allen Einstreumaterialien ist das Getreidestroh eines der besten, weil es, wie kaum ein anderes, die Fähigkeit hat, dem Vieh ein trockenes und reinliches Lager zu bieten. Es verfügt über eine hervorragende Aufsaugungskraft, ist weich und biegsam und zersetzt sich überdies später auf dem Felde ziemlich rasch und gleichmäßig.

Untersuchungen über die Aufsaugungskraft verschiedener Strohsorten stellte Heiden (40)<sup>1)</sup> an, während Emil Wolff (88) Angaben über den Düngewert veröffentlichte. Einer der ersten, der über die Mikroflora des Getreides Angaben machte, war Hoffmann (42), der in 0,1 g Getreide 7400—1 164 000 Bakterienkeime fand und nachwies, daß beim trocken und sauber aufbewahrten Getreide die Zahl der Keime mit der Zeit abnimmt.

Die Forschungen von Burri (14) und Dügge li (21) über die Bakterienflora an grünen Gewächsen ergaben die interessante Tatsache, daß die Mikroflora von Pflanzen nicht die zufällige Summe eines auf ihrer Oberfläche erfolgten Anfluges von Mikroorganismen ist, sondern einen eigenen spezifischen Charakter trägt. In seiner Arbeit über „Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen“ kommt Dügge li zum Schlusse, daß die Bakterienflora einer Pflanze der Hauptsache nach das Ergebnis einer während des Wachstums der Pflanze auf der Oberfläche derselben stattgefundenen lebhaften Bakterienentwicklung ist und man von einer spezifisch epiphytischen Mikroflora reden kann.

Der Anstoß zur Untersuchung, speziell zur bakteriologischen Prüfung von einzelnen Einstreumitteln, ging von Molkereitechnikern aus, die die Ursache des Auftretens von Milchfehlern in der Verwendung von schlechter Streu vermuteten. Weigmann (82) erklärte, daß die Verwendung schlechter Streu die Möglichkeit höchst nachteiliger Infektionen der Milch mit sich bringen kann. So beschrieben Weigmann und Zirn (85) in der Milchzeitung 1893 einen Fall, wo speziell schlechtes Stroh die Ursache für das Auftreten von seifiger Milch war, indem eine Bakterienart, die nachgewiesenermaßen auf dem Stroh vorkam, durch Einwandern in die Milch während des Einstreuprozesses, diesen Fehler hervorrief. Keimzahlen über die Bakterienmengen von Stroh ermittelten Backhaus und Cronheim (4), sowie Gruber (36), der sich darüber folgendermaßen äußerte:

„Eine Hauptquelle für die Infektion der Stallluft ist jedenfalls in dem Streumaterial zu suchen, denn die Bakterienmenge eines Grammes Streu

<sup>1)</sup> Die eingeklammerten Zahlen beziehen sich auf das Literaturverzeichnis am Schlusse der Arbeit.

erreicht in einzelnen Versuchen 256 und 442 Mill. Dieser zahlenmäßige theoretische Befund resp. die Korrelation zwischen der Keimzahl der Milch während der Stallperiode und des Weideganges und derjenigen des Streumaterials bestätigen die längst bekannte Tatsache, daß die Qualität eines Streumaterials sehr mit der Haltbarkeit einer Milch in unmittelbarem Zusammenhange steht.“

## B. Untersuchung einzelner Strohproben.

### Strohprobe No. 1.

Gutes, trockenes Winterweizenstroh, geliefert von der Direktion der landwirtschaftlichen Winterschule in Schaffhausen, wurde am 3. Mai 1910 in der im 1. Teil, Abschnitt 1 beschriebenen Weise auf Gelatine- und Agarplatten, sowie auf hohe Schichtkulturen verarbeitet und am 9. Mai 1910 untersucht.

Von den 3 Nährbodenarten, die wir mit den Verdünnungen  $\frac{1}{10\,000}$ ,  $\frac{1}{100\,000}$  und  $\frac{1}{\text{mill. g}}$  des Materials beschickt hatten, erwies sich überall diejenige von  $\frac{1}{\text{mill.}}$  als für die Untersuchung am geeignetsten, wobei uns als leitend folgende Gesichtspunkte dienten: Platten, die zu dicht besetzt sind, d. h. deren Kolonienzahl 200—300 übersteigt, ergeben meist relativ zu wenig Keime, da durch das nahe Beisammenwachsen der Bakterien zufolge Platzmangel viele Keime nicht zur Koloniebildung schreiten, oder durch starke Anhäufung von Stoffwechselprodukten Wachstumshemmungen eintreten können. Andererseits ist uns bei zu knapper Besetzung (unter 20—30 Keimen) für den Nachweis aller in der Streu vorkommenden Bakterienarten, die auf den angewandten Nährböden gedeihen können, zu wenig Garantie geboten. Wenn immer möglich, wurden daher solche Verdünnungen bei den Platten und hohen Schichten als zweckentsprechend ausgelesen, deren Keimzahlen innerhalb der Grenzen von 30—200 sich bewegten.

Die Verdünnungen  $\frac{1}{\text{mill. g}}$  zeigten folgendes Bild:

Bakterienspezies	Gelatineplatte Keimzahl	Agarplatte Keimzahl	Hohe Schicht Keimzahl	Gesamtzahl
<i>Bacterium herbicola aureum</i>				
Burri et Duggeli . . . . .	40	60	—	60
<i>B. Güntheri</i> L. et N. . . . .	18	—	15	18
(= <i>B. lactis acidii</i> Leichmann = <i>Streptococcus acidilactici</i> Grotenfeldt = <i>Streptococcus lactis</i> [Lister] Löhnis)				
	58	60	15	78

Es setzte sich somit das Untersuchungsergebnis folgendermaßen zusammen:

#### In qualitativer Hinsicht:

Gesamtzahl auf Gelatineplatten	58 Mill. Keime pro g Stroh
„ auf Agarplatten . .	60 „ „ „ „
„ in hoher Schicht . .	15 „ „ „ „

Die Summe der Gesamtzahlen der verschiedenen Arten betrug, alle 3 Nährböden berücksichtigend, 78 Mill. Keime pro g Stroh. Davon entfielen auf:

<i>Bacterium herbicola aureum</i>	60 Mill. = 76 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	18 Mill. = 24 %
	<hr/> 78 Mill. = 100 %

Vielen Bakteriologen genügt es, ihre Forschungsergebnisse auf die Untersuchung mittels eines einzigen Nährbodens zu basieren, welchen Umstand wir als ungenügend betrachteten und stetsfort 3 verschiedene Nährböden in Anwendung brachten. Daß in letzterem Falle den verschiedenen in einer Streu vorkommenden Mikroben mit ihren wechselnden Ansprüchen an Ernährung, Temperatur, Sauerstoffbedürfnis usw., mehr Gelegenheit geboten ist, das für sie zusagende Milieu zu gutem Wachstum auszuwählen, als bei Verwendung einer einzigen Kulturart, ist einleuchtend. Jede Bakterienart wird auf dem ihr am meisten zusagenden Nährboden qualitativ und quantitativ die beste Entwicklung zeigen. Von dieser Annahme ausgehend, scheint uns bei der Keimzahlberechnung die Einsetzung der Maximalzahlen als den das Endresultat der Untersuchung bestimmenden Faktor für durchaus gerechtfertigt.

Die Keimzahl von 78 Millionen pro g ist als eine ziemlich hohe anzusehen; der Artenbestand mit nur 2 Vertretern ist entschieden gering zu nennen.  $\frac{3}{4}$  der Keime gehören dem auf grünen Pflanzenteilen, speziell auf Gräsern, wie die Untersuchungen von Burri und Duggeli (21) zeigten, häufig vorkommenden *Bacterium herbicola aureum* an, während der Rest durch das in der Natur weit verbreitete, Milchsäure produzierende *Bacterium Güntheri* L. et N. vertreten ist.

### Strohprobe No. 2.

**Aussehen und Herkunft.** Gute Qualität von trockenem Petkuserroggenstroh aus der Gegend von Rüdlingen im Kt. Schaffhausen. Das Roggenstroh lagerte den Winter über in einer selten benutzten Scheune und war bei der Probeentnahme und der baldigen bakteriologischen Prüfung ca.  $\frac{1}{2}$  Jahr alt.

Befund am 9. Mai 1910:

	Gesamtzahl der Keime
Auf den Gelatineplatten . . . . .	25 Mill. pro g Stroh
Auf den Agarplatten . . . . .	20 „ „ „ „
In den hohen Schicht-Kulturen	5 „ „ „ „

Die Gesamtzahl der Keime auf allen Nährböden betrug 33 Mill. pro g Stroh; dabei entfielen auf:

<i>Bacterium herbicola aureum</i>	15 Mill. = 45 %
Kokken (nicht näher studiert) . . . . .	7 „ = 23 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	5 „ = 16 %
<i>B. coli</i> . . . . .	3 „ = 9 %
Sarcinen (nicht näher studiert) . . . . .	1 „ = 3 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	1 „ = 2 %
Aktinomyeten . . . . .	1 „ = 2 %
	<hr/> 33 Mill. = 100 %

Fast die Hälfte der dieses Stroh bewohnenden Bakterien vertritt das *Bacterium herbicola aureum* Burri et Duggeli, das durch seine üppigen, gelben Kolonien, die im Inneren deutliche Zoogloenbildung zeigten, sein Wohlbehagen über sein Nährsubstrat ausdrückte. Während die



23 proz. Kokken, sog. Mikrokokken von  $\frac{3}{4} \mu$  ( $\frac{1}{1000}$  mm) Durchmesser, harmloser Natur sind, so erregen die vorkommenden Gasbildner, *Bacterium acidilactici* Hüppe und *Bacterium coli* (Escherich) L. et N. unsere Aufmerksamkeit; machen sie doch  $\frac{1}{4}$  der Gesamtflora aus. In Milchzuckeragar hohe Schicht gebracht, zeigte *Bacterium coli* kräftige Gasbildung durch Produktion von Wasserstoff und Kohlensäure, die im Mengenverhältnis von 2:1 standen, während bei *Bacterium acidilactici* das Gärvermögen erst nach mehrmaligem Weiterimpfen auf Milchzucker enthaltenden Nährböden wieder zum Vorschein kam. Als häufig vorkommende Organismen überrascht uns das Auftreten von Sarcinen keineswegs. Actinomyceten und *Bacillus mesentericus* (Flügge) L. et N. sind auch weit verbreitete Mikroorganismen; wir können sie meist dann beobachten, wenn irgendeine Verunreinigung des Materials mit Erde vorgelegen hatte.

### Strohprobe No. 3.

Diese Probe wurde uns durch einen Landwirt aus Ramsen im Kanton Schaffhausen übermittelt und trug die Aufschrift „Landhafer-Stroh“. In der Farbe schön gelb, gut getrocknet, durfte sie als von guter Qualität angesprochen werden.

Untersucht am 9. Mai 1910.

Es betrug die Keimzahlen auf:

Gelatineplatten . . . . .	20 Mill. pro g
Agarplatten . . . . .	33 „ „ „
Mzkag. hoher Schicht . . . . .	5 „ „ „

wobei sich die Berechnung der Gesamtkeimzahl auf 43 Mill. pro g Stroh stellte.

### Zusammensetzung der Mikroflora:

<i>Bacterium herbicola aureum</i> . . . . .	15 Mill. =	35 %	} 42 %
<i>B. herbicola rubrum</i> . . . . .	3 „ =	7 %	
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	11 „ =	25 %	
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	5 „ =	10 %	
Kokken (nicht weiter verfolgt) . . . . .	3 „ =	8 %	
<i>Bacterium punctatum</i> . . . . .	2 „ =	5 %	
Unbekanntes Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	2 „ =	4 %	
Schimmelpilze . . . . .	1 „ =	3 %	
Sarcinen . . . . .	1 „ =	3 %	
pro g 43 Mill. = 100 %			

Wiederum hat hier das *Bacterium herbicola*, in den Subspezies *aureum* und *rubrum* (Burri et Dügge) auftretend, mit 42 Proz. der Gesamtkeimzahl gegenüber anderen Arten den Vorrang. Bemerkenswert bei dieser Probe ist auch das Vorkommen von gasbildenden Milchsäurebakterien, repräsentiert durch das *Bacterium acidilactici*, das beim Weiterimpfen den Besitz des Gasbildungsvermögens noch deutlich dokumentierte, somit, trotz der auf Stroh in dieser Hinsicht wohl ungünstigen Lebensbedingungen, jene Eigenschaft noch nicht verloren hatte, eine Tatsache, die wir in späteren Fällen nicht immer bestätigt fanden. Eine deutliche Trübung um die Kolonien des *Bacterium Güntheri* in der hohen Schicht ließ auf das ungeschwächte Säuerungsvermögen dieser Spezies einen Schluß ziehen. Die Kokken gehörten durchwegs in die Gruppe der nicht pathogenen Luftkokken und scheinen mit Schimmelpilzen und Sarcinaarten häufige Bewohner des Strohes zu sein. Das in graulichen, die Gelatine peptonisierenden Kolonien wachsende *Bacterium punctatum* (Zimm.) L. et N., haben

wir später noch öfter getroffen, und es erwies sich diese Art stets als recht lebenskräftig.

#### Strohprobe No. 4.

Vom gleichen Bezugsort wie Probe No. 3 stammend; sie wurde am 10. April 1910 untersucht<sup>1)</sup>.

Keimzahlen auf: Gelatineplatten . . . 70 Mill. pro g Stroh  
 Agarplatten . . . 39 „ „ „ „  
 Hoher Schicht . . . 5 „ „ „ „

Die Gesamtkeimzahl von 111 Mill. verteilte sich auf folgende Spezies:

<i>Bacterium herbicola aureum</i> . . .	36 Mill.	= 32 %
Kokken . . . . .	30 „	= 27 %
Gelber Säurebildner . . . . .	20 „	= 18 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	10 „	= 9 %
<i>B. punctatum</i> . . . . .	10 „	= 9 %
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	5 „	= 5 %
		pro g 111 Mill. = 100 %.

*Bacterium herbicola* und Kokken finden wir wieder an erster Stelle. In Begleitung des *Bacterium herbicola aureum* trafen wir den ihm nahestehenden Gelben Säurebildner Levy. Für beide Arten scheinen die Getreidepflanzen die in der Natur bevorzugten Standorte zu sein, wie aus unserer Beobachtung, daß sowohl die eine wie die andere Spezies sehr häufig auf Stroh und, wie andere Untersuchungen zeigten, in Mehlen anzutreffen sind, hervorgeht. Das *Bacterium Güntheri* macht sich nur bescheiden bemerkbar; stärker treten das *Bacterium fluorescens* (Flügge) L. et N. und das *Bacterium punctatum* hervor.

#### Strohprobe No. 5.

Am 10. April 1910 wurde die letzte aus dem Kanton Schaffhausen stammende Probe untersucht. Infolge Verflüssigung der Gelatineplatten durch das *Bacterium fluorescens* konnten die Keimzahlen daselbst nicht mehr ermittelt werden.

Auf Agarplatten betrugen sie 68 Mill. pro g Stroh, welche Summe zugleich die Gesamtkeimzahl repräsentierte, und in der hohen Schicht belief sich die Zahl der Keime pro g auf 20 Mill.

Keimgehalt qualitativ:

Kurzstäbchen mit orangefarbenen Kolonien . . .	2,5 Mill.	= 37 %
Gelber Säurebildner . . . . .	2,0 „	= 30 %
<i>Bacterium herbicola aureum</i> . . .	1,5 „	= 22 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	0,8 „	= 11 %
		pro g Stroh 6,8 Mill. = 100 %.

Neben dem Gelben Säurebildner, dem *Bacterium herbicola* und den Fluorescenten, tritt uns da ein unbekanntes Stäbchen, das auf Agar intensiv orange gefärbte Kolonien bildete, entgegen, und wir hielten es seines relativ starken Vorkommens wegen der Mühe wert, dasselbe einer näheren Prüfung zu unterziehen. Nachdem der Mikroorganismus rein ge-

<sup>1)</sup> Wenn in der Folge hinsichtlich der Beschaffenheit der verarbeiteten Streumaterialien nichts weiteres bemerkt wird, so handelt es sich um Stroh von normalem Aussehen und guter Qualität. Bemerken wir hinsichtlich der Provenienz des Strohes nichts Näheres, so handelt es sich stets um Weizenstroh.

züchtet worden war, verweilte er noch 3 Wochen auf Agarstrich in der Sammlung, um dann zur Charakterisierung herangezogen zu werden.

**Mikroskopisches Aussehen:** 3—4  $\mu$  lange und 0,5—0,7  $\mu$  breite Stäbchen, einzeln vorkommend, in Schleimhüllen eingebettet.

**Eigenbewegung:** Keine vorhanden.

**Färbbarkeit:** Nach Gram und mit den gewöhnlichen Farbstoffen färbbar, obwohl die Schleimhüllen letzteren erheblichen Widerstand entgegensetzen.

**Ansprüche an Nährböden und Sauerstoffzutritt:** Wächst auf den meisten gewöhnlichen Nährböden gut und fördert dabei den ungehinderten Zutritt des Sauerstoffes. Vermag in hoher Schicht nicht und in Stiehkulturen nur spärlich zu wachsen.

**Gelatineplatte:** Nach 3 Tagen erscheinen rundliche, leicht erhabene Kolonien. Niemals konnte Verflüssigung der Gelatine bemerkt werden. Die Auflagerungen zeigten butterartige Konsistenz und hellorange Farbe. Das Aussehen stimmte ziemlich mit demjenigen der Agarplatten überein.

**Gelatinestich:** Oberflächlich eine schwache, nagelkopfähnliche, fettglänzende Auflagerung von orange-rosaroter Farbe. Kein Tiefenwachstum und keine Gelatineverflüssigung.

**Agarplatte:** Bei 30° aufbewahrte Agarplatten zeigen nach 2 Tagen rundliche, wenig erhabene, fettglänzende, orangefarbene Oberflächenkolonien. Mitte und Rand sind etwas höher als die zwischenliegende Zone, ganzrandig; das Innere zeigt homogene Struktur. Nach 4 Tagen ist bei Oberflächenkolonien der Durchmesser 4—6 mm und bei Tiefenkolonien 1 mm. Letztere besitzen vielfach einen ausgebuchteten Rand. Sind junge Kulturen in der Farbe rosarot bis orange, so ist der Farbenton nach einem Monat mehr gelblich, um später wieder orange oder rötlich-orange zu werden.

**Agarstrich:** Relativ schlechtes Wachstum.

**Milchzuckeragarstrich:** Auf diesem Nährboden zeigt sich kräftiges, orangefarbenes Wachstum, gleich demjenigen der Agarplatten.

**Milchzuckeragar-Schüttelkultur:** Aufbewahrt bei 37° zeigte sich weder an der Oberfläche noch in der Tiefe irgendwelches Wachstum.

**Bouillonkultur:** Kein Wachstum.

**Traubenzucker-Bouillonkultur:** Nach 2 Tagen ist die Flüssigkeit stark trübe, Bodensatz sandig, im weiteren Verlauf mehr wolkig werdend und zuletzt dichte Knäuel bildend. Nachträglich bildet sich an der Oberfläche eine trockene, zerrissene Haut.

**Milch** wird nicht verändert, höchstens zeigt die Rahmschicht nach 8 Tagen durch das Bakterienwachstum eine orange Verfärbung.

**Kartoffel:** Bei 30° sehr gutes Wachstum. Schwach erhabener, an feuchten Stellen fettglänzender, sonst matter Belag, überall intensiv orange gefärbt.

**Chemische Leistungen:** Nitrat- und Indolreaktion verlaufen negativ. Harnstoffbouillon wird nach 2 Tagen bei Zimmertemperatur unter kräftiger Ammoniakbildung zersetzt.

Ein Vergleich der vorliegenden Spezies mit den uns durch eigene Untersuchungen oder durch Literaturstudium bekannt gewordenen Bakterienarten ergab, daß sie mit keinem beschriebenen Mikroorganismus identifiziert werden kann; zweifellos gehört aber der Spaltpilz in die Gruppe der gelben Kurzstäbchen, also in die Verwandtschaft des *Bacterium herbicola aureum* (Burri et Duggeli), des Gelben Gasbildners Holliger und des Gelben Säurebildners Levy.

#### Strohprobe No. 6.

Von einem Landwirte in Meilen am Zürichsee wurde importiertes französisches Weizenstroh bezogen und am 19. Mai 1910 verarbeitet, wobei sich folgender Befund herausstellte:

Auf Gelatineplatten . . . 240 Mill. Bakterienkolonien pro g Stroh  
 „ Agarplatten . . . . 580 „ „ „ g „  
 in der hohen Schicht kein Wachstum.



Dabei wurden folgende Mikroorganismen beobachtet:

Aktinomyceten . . . . .	500 Mill. =	83 %
Kokken . . . . .	50 „ =	8 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . .	30 „ =	5 %
<i>B. putidum</i> . . . . .	20 „ =	4 %

pro g Stroh 600 Mill. = 100 %.

Den Hauptteil der Mikroflora machen hier die Actinomyceten, die ihrer Artzugehörigkeit vorwiegend dem *Actinomyces chromogenes* Gasp.  $\beta$  *albus* L. et N. entsprechen, aus. Diese Boden bewohnende Art ist öfters auf Streuproben getroffen worden, namentlich wenn es sich um Material handelte, das deutliche Verunreinigungen durch Erde aufwies. Kokken, *Bacterium acidilactici* und *Bacterium putidum* (Flügge) L. et N. finden wir diesmal in geringen Mengenverhältnissen.

#### Strohproben No. 7 und No. 8.

Bezugsort beider Proben ist die landw. Schule Rütli bei Bern. Verarbeitet wurden sie am 20. Mai 1910, wobei das Resultat folgendes war:

		Keimzahlen pro g Stroh	
		No. 7: Roggenstroh	No. 8: Weizenstroh
Gelatineplatten . . .	330 Mill.		6,5 Mill.
Agarplatten . . . .	240 „		14 „
Hohe Schicht . . .	—		5 „
Artenbefund bei		No. 7	No. 8
Aktinomyceten . . . . .	140 Mill. =	33 %	5 Mill. = 22 %
Kokken . . . . .	140 „ =	33 %	4 „ = 17 %
<i>Bacterium herbicola aureum</i>	120 „ =	30 %	—
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	—	—	5 „ = 22 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	—	—	3,3 „ = 14 %
Gelber Säurebildner . . . . .	—	—	3 „ = 13 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . .	—	—	2 „ = 8 %
Schimmelpilze . . . . .	20 „ =	4 %	0,7 „ = 4 %
		420 Mill. = 100 %	23 Mill. = 100 %
		pro g Stroh	pro g Stroh

Bei beiden Proben stehen die Actinomyceten stark im Vordergrund, dann folgen Kokken, *Bacterium herbicola*, Gelber Säurebildner Levy, *B. Güntheri*, letzteres allerdings in ziemlich degenerierten Formen, die auch das Säurebildungsvermögen wesentlich eingebüßt hatten. Gleichermassen hatten auch die Fluorescenten einen Teil ihrer typischen Eigenschaften, wie Farbstoffbildungsvermögen und Bewegung, verloren. Eigentliche Gasbildner (*Bacterium acidilactici*) zeigte nur die 8. Probe, während prozentual gleich stark in beiden Proben die zur Familie der Mucorineen gehörenden Schimmelpilze anzutreffen waren.

#### Strohprobe No. 9.

Diese Probe wurde am 23. Mai 1910 von einem Händler in St. Gallen als französisches Weizenstroh bester Qualität eingesandt und sofort untersucht.

Die Keimzahlen von Gelatineplatten : Agarplatten : hoher Schicht verhielten sich wie 9 Mill. : 2,5 Mill. : 12 Mill. Die Gesamtkeimzahl war 28 Mill. pro g Stroh. Davon waren:

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	12 Mill. =	43 %
Aktinomyceten . . . . .	6 „ =	21 %
<i>Bacterium herbicola aureum</i> . .	5 „ =	18 %
Kokken . . . . .	3 „ =	11 %
<i>Bacterium putidum</i> . . . . .	1,5 „ =	5 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	0,5 „ =	2 %

pro g Stroh 28 Mill. = 100 %.

Quantitativ fast die Hälfte aller Keime ausmachend, zeigte das hier isolierte *Bacterium Güntheri* Formen, die stark an Streptokokken erinnerten, so daß uns erst eine nähere Prüfung seines kulturellen Verhaltens zur Überzeugung brachte, daß wir es doch mit einem echten „*Güntheri*“ zu tun hatten. Auf Milchzuckeragarplatten gebracht, hatten sich einzelne Kolonien als deutlich fadenziehend herausgestellt.

Daß solche, von verschiedenen Standorten herrührende „*Güntheri*“, die in ihrer äußeren Form von deutlich ausgeprägten Doppelstäbchen bis zu den typischen Streptokokken in allen Variationen vorkommen können und doch in ihren physiologischen Eigenschaften Zusammengehörigkeit aufweisen, haben wir in vorliegendem Falle, wie auch später öfters konstatiert. Die gleiche Ansicht hat früher auch Leo Müller (91) ausgesprochen. Den Restbestand der Mikroflora bildeten Aktinomyceten, *Bacterium herbicola aureum*, Kokken, *Bacterium fluorescens* und *Bacterium putidum*. In minimen, prozentual nicht faßbaren Mengen machten sich in der hohen Schicht auch fäulniseregende Bakterien und Buttersäurebazillen bemerkbar, die offenbar durch das Überwuchern des säureproduzierenden *Bacterium Güntheri* in ihrer Entwicklung gehemmt worden waren.

#### Strohprobe No. 10.

Das am 24. Mai 1910 verarbeitete, von Kappel a. Albis, Kanton Zürich, stammende Weizenstroh, hatte folgende bakteriologische Zusammensetzung:

Quantitativ:	Auf Gelatineplatten . . .	9 1/2	Mill.	Keime pro g Stroh
	Auf Agarplatten . . .	35	"	" " " "
	In hoher Schicht . . .	3,5	"	" " " "
Qualitativ:				
	Bacterium herbicola aureum . .	18	Mill.	= 47 %
	B. Güntheri . . . . .	8,2	"	= 22 %
	Aktinomyceten . . . . .	8	"	= 21 %
	Kokken . . . . .	3	"	= 8 %
	Bacterium fluorescens . . . . .	} 0,8	"	= 2 %
	B. putidum . . . . .			
		pro g 38	Mill.	= 100 %.

Was die Art der Keime anbelangt, so zeigt diese Probe keinen Unterschied gegenüber No. 9; nur die prozentuale Verteilung ist eine andere und die Keimmenge um 10 Millionen pro g größer.

#### Strohproben No. 11, No. 12 und No. 13.

Die Proben wurden uns durch die landwirtschaftliche Schule Plantahof in Landquart, Kanton Graubünden, übermittelt und waren deklariert als „Haferpreßstroh“, (No. 11), das ein schönes trockenes Aussehen hatte, während die 2 Proben „Roggenstroh“ (No. 12 und 13), in der Farbe mehr schmutzig gelb aussehend, den Eindruck geringerer Qualität machten.

Datum der Untersuchung: 31. Mai 1910.

Beſund auf:

	Gelatineplatten	Agarplatten	Hoher Schicht	Gesamtkeimzahl
No. 11	6,5 Mill.	35 Mill.	—	35 Mill. pro g Stroh
No. 12	2,4 „	28 „	3,1 Mill.	33,5 „ „ „ „
No. 13	80 „	150 „	32 „	177 „ „ „ „

## Verteilung der Spaltpilzarten bei:

## No. 11.

<i>Bacterium herbicola aureum</i> . . . . .	12 Mill.	= 34 %
<i>B. herbicola aureum</i> (Involutionsformen) . . .	10 „	= 30 %
Kurzstäbchen, unbekannt . . . . .	5 „	= 14 %
Kokken . . . . .	4 „	= 11 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	4 „	= 11 %
		pro g 35 Mill. = 100 %.

## No. 12.

<i>Bacterium herbicola aureum</i> . . . . .	11 Mill.	= 33 %
Stäbchen mit orangefarbenen Kolonien . . .	9 „	= 26 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	3,1 „	= 10 %
Kokken . . . . .	3 „	= 9 %
Gelber Säurebildner . . . . .	3 „	= 9 %
Sarcinen . . . . .	2 „	= 6 %
<i>Bacterium punctatum</i> . . . . .	1,5 „	= 4 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	0,5 „	= 2 %
<i>B. coli commune</i> . . . . .	0,4 „	= 1 %
		pro g 33,5 Mill. = 100 %.

## No. 13.

Kokken . . . . .	100 Mill.	= 56 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	30 „	= 16 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	20 „	= 11 %
Gelber Säurebildner . . . . .	10 „	= 6 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	10 „	= 6 %
<i>B. punctatum</i> . . . . .	5 „	= 3 %
Buttersäurebazillen . . . . .	2 „	= 2 %
		pro g 177 Mill. = 100 %.

Als treuen Begleiter der Mikroflora des Strohes finden wir bei No. 11 und 12 wiederum an erster Stelle das *Bacterium herbicola aureum*, dem in Probe 11 mit 30 Proz. ein herbicolaähnlicher Organismus zur Seite steht. Auf Agar in hellgelben, im Innern spärlich Zoogloen aufweisenden, rundlichen Kolonien wachsend, im mikroskopischen Bilde deutlich Involutionsformen zeigend, mußten wir diese Spezies nach genauer Nachprüfung als degeneriertes *Bacterium herbicola aureum* ansprechen. Das in gleicher Probe auftretende Kurzstäbchen zeigte ebenfalls Degenerationerscheinungen, während sich die Kokken und Fluorescenten auf den Plattenkulturen üppiger Entwicklung erfreuten. Das in orangefarbenen Kolonien wachsende Stäbchen der Probe No. 12 ist mit dem auf Seite 12 beschriebenen Organismus identisch. Neben ihm kommen vor: *Bacterium Güntheri*, Kokken, Gelber Säurebildner, Sarcinen und Fluorescenten, denen sich als gefährlicher Gasbildner noch das *Bacterium coli* (Escherich) L. et N. anschließt.

Das makroskopische Aussehen und die Zusammensetzung der Mikroflora von Strohprobe No. 13 ließen uns vermuten, daß diese Streu offenbar schon einmal Verwendung gefunden hatte, wahrscheinlich wieder ausgewaschen und neuerdings getrocknet wurde. Für diese Vermutung sprach einigermaßen die hohe Zahl der Kokken (56 Proz.). ebenso die 11 Proz., die dem *Bacterium acidilactici* zukamen, beides Organismen, die wir später bei unseren Düngeruntersuchungen oft angetroffen haben. Eine stattgefundene Infektion des Strohes durch Dünger schien uns im vorliegenden Falle wahrscheinlich. Bescheiden machten sich der Gelbe Säurebildner und das *Bacterium fluorescens*, sowie *Bacterium putidum* bemerkbar,



während das *Bacterium Güntheri* kräftig in die Erscheinung trat und der unbewegliche Buttersäurebazillus von Graßberger und Schattenfroh gerade noch prozentual nachweisbar war.

#### Strohprobe No. 14.

Aussehen: Gut getrocknetes, schönes, gelbliches, sauberes Haferstroh.

Bezugsort: Liestal, Kt. Baselland.

Datum der Untersuchung: 6. Juni 1910.

Befund: Die Keimzahlen der Gelatineplatten betragen 9 Mill., der Agarplatten 9,5 Mill. und der hohen Schichten 2 Mill. pro g Stroh.

Von den als Gesamtkeimzahl in Betracht kommenden 9,5 Mill. pro g entfallen auf:

Aktinomyceten . . . . .	7	Mill. = 73 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	2	„ = 22 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	0,5	„ = 5 %

9,5 Mill. = 100 %.

Bei großer Artenarmut sehen wir hier die Aktinomyceten dem *Bacterium herbicola* bedeutend überlegen, indessen das *Bacterium Güntheri* mit 22 Proz. ungefähr in seiner gewohnten Stärke vertreten ist.

#### Strohproben No. 15, No. 16 und No. 17.

Sie haben den gemeinsamen Bezugsort Liestal, Kanton Baselland. Sie gelangten zusammen am 1. Juni 1910 zur Verarbeitung.

#### Quantitativer Befund:

Keimzahl pro g	No. 15 Roggenstroh	No. 16 Spelzstroh	No. 17 Einkornstroh
Auf Gelatineplatten . . . . .	32 Mill.	120 Mill.	80 Mill.
Auf Agarplatten . . . . .	30 „	95 „	180 „
In hoher Schicht . . . . .	12 „	15 „	5 „
Gesamtkeimzahl:	41 Mill.	150 Mill.	205 Mill.

#### Qualitativer Befund:

Keimarten	No. 15	No. 16	No. 17
Aktinomyceten . . . . .	— —	40 Mill. = 27 %	70 Mill. = 34 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	15 Mill. = 36 %	10 „ = 6 %	60 „ = 29 %
Kokken . . . . .	4 „ = 10 %	40 „ = 27 %	— —
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	12 „ = 30 %	30 „ = 20 %	5 „ = 3 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	3 „ = 7 %	20 „ = 14 %	30 „ = 14 %
Kurzstäbchen (nicht näher verfolgt) . . . . .	— —	— —	30 „ = 15 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	— —	10 Mill. = 6 %	10 „ = 5 %
<i>B. punctatum</i> . . . . .	2 Mill. = 5 %	— —	— —
Schimmelpilze . . . . .	5 „ = 12 %	— —	— —
	41 Mill. = 100 %	150 Mill. = 100 %	205 Mill. = 100 %

Die große Zahl von Gasbildnern (*Bacterium acidilactici*) der ersten und letzten Probe geben uns zu Bedenken Anlaß, da sie bei dominierendem Auftreten imstande sind, im Molkereibetriebe Störungen hervorzurufen, weshalb eine solche Streu als eventuelle Infektionsquelle für Milch immerhin Beachtung verdient. Diesen Umstand berücksichtigend, haben

wir Probe No. 17 später zur Durchführung eines kombinierten Versuches mit Exkrement-Emulsion, sowie mit frischer und steriler Milch herangezogen. Gutes Fortkommen in 2 von den untersuchten 3 Strohproben finden auch die Aktinomycceten, die bei No. 16 und 17 ca.  $\frac{1}{3}$  aller Keime ausmachen. Daneben trifft man aber alte Bekannte in ansehnlicher Zahl, Kokken und *Bacterium Güntheri*, als treuen Begleiter das *Bacterium herbicola*, in geringen Mengen auch Fluorescenten.

Durch die Vermittlung eines Strohhändlers in Zürich kamen wir in den Besitz dreier Proben, die sämtlich aus dem Auslande stammten und zwar:

No. 18: Weizenstroh aus Steiermark, Österreich.

No. 19: Weizenstroh aus Süditalien.

No. 20: Weizenstroh aus Rumänien.

Gut getrocknet, goldgelb in der Farbe, frei von irgendwelchen Unreinigkeiten, machten sie den Eindruck bester Qualität. Sie wurden gleichzeitig am 13. Juli 1910 untersucht.

#### Strohprobe No. 18.

Keimzahlen: Auf Gelatineplatten . . . 5,4 Mill. pro g  
Auf Agarplatten . . . 6,1 „ „ „  
In hoher Schicht . . . 0,3 „ „ „  
Gesamtkeimzahl: 6,2 Mill. pro g.

#### Keimarten:

Aktinomycceten . . . . .	3	Mill. =	48 %
Kokken . . . . .	1,7	„ =	28 %
<i>Bacterium herbicola aureum</i> . . .	1	„ =	16 %
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	0,3	„ =	5 %
Sarcinen . . . . .	0,2	„ =	3 %

pro g 6,2 Mill. = 100 %.

Namentlich auf den Agarplatten treffen wir in großer Üppigkeit die Aktinomycceten in der Spezies *Actinomyces chromogenes* Gasperini  $\beta$  albus L. et N., die sich durch einen intensiven Erdgeruch bemerkbar machten. Verschiedene Mikrokokken harmloser Natur, *Bacterium herbicola aureum*, *Bacterium Güntheri*, in vielen Involutionsformen auftretend, vervollständigen mit einigen Sarcinen das Bild der Bakterienflora dieser Streu.

#### Strohprobe No. 19.

Sie zeichnete sich durch ihre außerordentlich hohen Keimzahlen, verbunden mit großer Artenarmut aus, fanden wir doch auf den

Gelatineplatten . . . . .	17	Mill. Keime pro g
Agarplatten . . . . .	100	„ „ „
in der hohen Schicht . . . .	190	„ „ „

Dabei konnten wir bei einer Gesamtkeimzahl von 192 Mill. Mikroorganismen pro g nur 2 Spezies nachweisen, nämlich:

<i>Bacterium Güntheri</i> . . .	190	Mill. =	99 %
Kokken . . . . .	2	„ =	1 %

pro g 192 Mill. = 100 %.

Das sozusagen als Alleinherrscher auftretende *Bacterium Güntheri* ließ außer einem etwas schwachen Säuerungsvermögen in Milch alle seine typischen Charakterisierungsmerkmale deutlich erkennen. Die Mikrokokken waren durchwegs gelatineverflüssigende Arten.

## Strohprobe No. 20.

Die Gelatineplatten ließen . . . . 15 Mill. Bakterien pro g nachweisen  
 „ Agarplatten „ . . . . 9 „ „ „ „  
 „ hohen Schichten enthielten . 12 „ „ „ „

Die Gesamtzahl von 27 Mill. Bakterien pro g umfaßte:

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	12 Mill.	=	45 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	6 „	=	23 %
Unbekanntes Kurzstäbchen (nicht näher verfolgt)	3 „	=	11 %
<i>Bacterium putidum</i> . . . . .	2 „	=	7 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	2 „	=	7 %
Kokken . . . . .	2 „	=	7 %
<hr/>			
pro g 27 Mill. = 100 %.			

Die aus südlicher Gegend stammende Probe überrascht uns, gleich der vorherigen, durch das Dominieren des *Bacterium Güntheri*. Gegenüber den bei uns gewöhnlich zu beobachtenden Formen zeigte das *Bacterium herbicola* in seinen Kolonien auf Agarplatten bei schwacher Vergrößerung Zoogloen, die sich mehr in Form kleiner, einzelner Würstchen, weniger in Haufen, repräsentierten und zudem war eine ganz schwach angedeutete Schollenstruktur erkennbar. In Milch verbracht, vermochte das isolierte unbekannte Kurzstäbchen keinerlei Veränderungen hervorzurufen, weshalb wir von einer weiteren Charakterisierung absahen.

## Strohprobe No. 21.

Diese Probe war Weizenstroh französischer Provenienz, wurde von einem Landwirte in Vevey bezogen und am 25. Januar 1911 untersucht. Auf den Gelatineplatten waren 2,1 Mill., auf den Agarplatten 2,2 Mill. Keime pro g gewachsen, während die hohen Schichten steril blieben.

An Arten kamen vor:

<i>Bacterium herbicola</i> . . . . .	2 Mill.	=	56 %
Stäbchen in grauen verflüssigenden Kolonien . .	1,4 „	=	39 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	0,2 „	=	5 %
<hr/>			
3,6 Mill. = 100 %.			

Zum ersten Male treffen wir bei dieser Probe Stroh eine größere Menge Sporenbildner, einerseits vertreten durch das in grauweißen Kolonien wachsende Stäbchen, das dem *Bacillus subtilis* F. Cohn nahe zu stehen schien, von uns aber mit demselben nicht gänzlich identifiziert werden konnte, und andererseits den *Bacillus mesentericus* umfassend.  $\frac{2}{3}$  der Keime des *Bacterium herbicola* gehörten der Subspezies *Bacterium herbicola aureum* und  $\frac{1}{3}$  dem *Bacterium herbicola rubrum* an.

## Strohprobe No. 22.

Diese Probe war Winterroggenstroh aus Villigen im Kt. Aargau. Das Stroh wurde am 20. Januar 1911 untersucht, wobei sich auf sämtlichen Platten und hohen Schichten mit der Gesamtkeimzahl von 27 Mill. pro Gramm nur Mikrokokken vorfanden, die nach näherer Prüfung als zum Typus *Micrococcus roseus* (Bumm) L. et N. gehörig befunden wurden.

## Strohprobe No. 23.

Aussehen und Herkunft: Gute Qualität, trockenes Sommergerstestroh gleichen Ursprungs wie No. 22.

Untersucht am 23. Januar 1911.

## Quantitativer Befund:

Auf Gelatineplatten . . . . .	63 Mill. Keime pro g
Auf Agarplatten . . . . .	250 „ „ „ „
In hohen Schichten . . . . .	15 „ „ „ „

## Qualitativer Befund:

<i>Bacterium herbicola aureum</i> . .	80 Mill. = 31 %
Kurzstäbchen, in orang. Kolonien wachsend. .	70 „ = 27 %
Kurzstäbchen, „ grauen „ . .	50 „ = 19 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	30 „ = 11 %
Kokken . . . . .	10 „ = 4 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	10 „ = 4 %
Andere Arten (nicht weiter verfolgt) . . . . .	10 „ = 4 %

Gesamtkeimzahl pro g 260 Mill. = 100 %.

*Bacterium herbicola* hat wieder den Vorrang; ihm folgt das bei Strohprobe No. 5 bereits beschriebene, in orangefarbenen Kolonien wachsende Kurzstäbchen, während dasjenige mit grauen Kolonien dem späterhin in Laubprobe No. 2 erwähnten identisch ist. Die Fluorescenten wagen sich etwas mehr als gewöhnlich hervor und drängen damit Kokken und *Bacterium Güntheri* in den Hintergrund.

## Strohprobe No. 24.

Sie umfaßt gutes, sauberes Roggenstroh aus Thun, Kt. Bern, und wurde als letzte Probe dieser Serie am 20. Januar 1911 verarbeitet.

## Es entfielen auf:

Gelatineplatten . . . . .	40 Mill. Keime pro g
Agarplatten . . . . .	140 „ „ „ „
Hohe Schichten . . . . .	15 „ „ „ „

## Davon waren:

Aktinomyceten . . . . .	80 Mill. = 50 %
Gelber Säurebildner . . . . .	40 „ = 25 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	16 „ = 10 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	15 „ = 10 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	5 „ = 3 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	3 „ = 2 %

Gesamtkeimzahl pro g 159 Mill. = 100 %.

Genau die Hälfte der gefundenen Mikroben sind Aktinomyceten,  $\frac{1}{4}$  gehören dem Gelben Säurebildner an, indessen sich der Rest auf *B. fluorescens*, *Bact. herbicola*, einige Gasbildner und unbekannte Kurzstäbchen verteilt.

Wie die Zahlen nachstehender Tabelle zeigen, ist die gefundene Keimmenge auf Stroh eine außerordentlich hohe, beträgt sie doch im Minimum pro Gramm 3,6 Mill., im Maximum 600 Mill. und der Durchschnitt stellt sich auf 115 325 000.

Backhaus und Cronheim (4) fanden pro Gramm guten Strohes 7,5, in schlechtem Stroh 10 Mill. Keime, indessen Gruber (36) pro Gramm 40—400 Mill. angibt, somit unseren Befunden wesentlich näher kommt.

Zusammenstellung der eruierten Keimzahlen  
der Strohproben No. 1—24.

No. der Probe	Auf den Gelatineplatten Keime pro g in Mill.	Auf den Agarplatten Keime pro g in Mill.	In den Mzkag. hohen Schichten Keime pro g in Mill.	Gesamtkeimzahl in Mill. pro g
1	58	60	15	78
2	25	20	5	33
3	20	33	5	43
4	70	39	5	111
5	—	68	20	68
6	240	580	—	600
7	330	240	—	420
8	6,5	14	5	23
9	9	2,5	12	28
10	9	35	3,5	38
11	6,5	35	—	35
12	2,4	28	3,1	33,5
13	80	150	32	177
14	9	9,5	2	9,5
15	32	30	12	41
16	120	95	15	150
17	80	180	5	205
18	5,4	6,1	0,3	6,2
19	17	100	190	192
20	15	9	12	27
21	2,1	2,2	—	3,6
22	20	27	10	27
23	63	250	15	260
24	40	140	15	159

An der Oberfläche des trocken aufbewahrten Strohes wird zufolge Mangels an Wasser und an Nährstoffen kaum eine Vermehrung der dort sich befindenden Mikroorganismen stattfinden. Dagegen scheinen die vorkommenden Spaltpilze gegen den Feuchtigkeitsmangel sehr widerstandsfähig zu sein, wie folgendes Beispiel zeigt:

Eine von uns untersuchte Strohprobe wurde nach 1½ jähriger Aufbewahrung im Laboratorium auf die während dieser Zeit stattgefundenen Veränderungen in Keimzahlen und Keimarten nachgeprüft, wobei das Ergebnis von dem früheren nur unwesentlich abwich. Allerdings geben wir zu, daß eine einzige Probe nicht genügt, um in dieser Richtung bindende Schlüsse aufzustellen.

Daß die Art der Keime für die Beantwortung dieser Frage stark ins Gewicht fällt, soll bei Besprechung der in Stroh vorgefundenen Bakterien-spezies näher ausgeführt werden. (Vgl. die Tabelle auf p. 21.)

Gruppieren wir die in 24 Strohproben vorgefundenen Keimarten nach der Häufigkeit ihres Vorkommens, so ergibt sich folgendes Bild:

1. <i>Bacterium herbicola</i> <sup>1)</sup>	19-mal vorgefunden
2. Kokken	18 „ „
3. <i>Bacterium Güntheri</i>	16 „ „
4. <i>B. fluorescens</i>	13 „ „
5. Aktinomycceten	11 „ „
6. <i>Bacterium acidilactici</i>	9 „ „

<sup>1)</sup> Wir haben in der Folge, wenn sich unter den Vertretern des *Bacterium herbicola aureum* auch einige wenige Prozente *B. herbicola rubrum* befanden, der Einfachheit halber, einzig die Bezeichnung *B. herbicola* angewendet.



## Zusammenstellung der Keimarten sämtlicher Strohproben.

No. der Strohprobe	Kokken	Bact. herbicola	Gelber Säurebildner	Orange Kurzstäbchen	Graue Kurzstäbchen	Bact. Güntheri	Bact. acidi lactici	Bact. coli	Bact. fluorescens	Bact. putidum	Bact. punctatum	Unbekannte Kurzstäbchen	Unbekannte Langstäbchen	Bacillus mesentericus	Buttersäurebazillen	Sarcinen	Aktinomyeten	Diverse Arten	Schimmelpilze
1	—	76	—	—	—	24	16	9	—	—	—	—	—	2	—	3	—	—	—
2	23	45	—	—	—	10	25	—	—	—	5	—	4	—	—	3	—	—	—
3	8	42	18	—	—	5	—	—	9	—	9	—	—	—	—	—	—	—	—
4	27	32	30	37	—	—	—	—	11	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	—	22	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	33	30	—	—	—	—	8	—	14	—	—	—	—	—	—	—	83	—	—
8	17	—	13	—	—	22	—	—	2	5	—	—	—	—	—	—	33	—	4
9	11	18	—	—	—	43	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	22	—	4
10	8	47	—	—	—	22	—	—	11	1	—	—	—	—	—	—	21	—	—
11	11	64	—	—	—	—	—	—	2	—	—	14	—	—	—	—	21	—	—
12	9	33	9	26	—	10	—	1	11	—	4	—	—	—	2	6	—	—	—
13	56	—	6	—	—	16	11	—	6	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—
14	—	5	—	—	—	22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	73	—	—
15	10	7	—	—	—	22	36	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	12
16	27	14	—	—	—	30	6	—	6	—	—	—	—	—	—	—	27	—	—
17	—	14	—	—	—	20	29	—	5	—	—	15	—	—	—	—	34	—	—
18	28	16	—	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	48	—	—
19	1	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	7	23	—	—	—	99	—	—	7	7	—	11	—	—	—	—	—	—	—
21	—	56	—	—	—	45	—	—	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—
22	100	—	—	—	39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23	4	37	—	27	19	4	—	—	11	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—
24	—	10	25	—	—	—	2	—	10	—	—	3	—	—	—	—	50	—	—

7. Gelber Säurebildner . . . . .	6-mal vorgefunden,
8. <i>Bacterium punctatum</i> . . . . .	5 „ „
9. <i>B. putidum</i> . . . . .	} . . . . . 4 „ „
Unbekannte Kurzstäbchen	
Sarcinen . . . . .	
Schimmelpilze . . . . .	} . . . . . 3 „ „
10. Kurzstäbchen in orangefarb. Kolonien . . . . .	
11. Kurzstäbchen in grauen Kolonien	
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	} . . . . . 2 „ „
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	
12. Langstäbchen . . . . .	} . . . . . 1 „ „
Buttersäurebazillen . . . . .	
Diverse Arten . . . . .	

Als den Hauptvertreter der Mikroflora auf Stroh müssen wir das *Bacterium herbicola* Burri et Düggeli ansehen, das, infolge seines Schleimbildungsvermögens, in hohem Grade befähigt ist, einerseits an der Oberfläche von Pflanzen anzuhaften, andererseits dem Austrocknen guten Widerstand entgegenzusetzen, so daß auch längeres trockenes Aufbewahren von Streu diese Bakterienart nicht stark zu beeinflussen vermag. Ein ähnliches Verhalten zeigt sich übrigens beim Gelben Säurebildner Levy, den wir, nach seinen kulturellen Eigenschaften beurteilend, als dem *Bact. herbicola* sehr nahestehend ansehen.

Einen Großteil der Kokken kann man als ständige Bewohner des Strohes betrachten, doch ist eine nachträgliche Verunreinigung beim Lagern durch Sedimentation von Keimen aus der Luft, wobei in erster Linie Kokken in Frage kommen, mit zu berücksichtigen. Die Ubiquität des *Bact. Güntheri* L. et N. und des *Bact. fluorescens* (Flügge) L. et N. wurde durch diese, wie durch spätere Untersuchungen zur Genüge nachgewiesen. Ebenso sind die Aktinomyцeten (*Streptothrix*-Arten) weit verbreitete Organismen, die sowohl auf Pflanzen als in der Erde vorkommen, wie sich aus Angaben von Beijerinck (9) ersehen läßt. Genannter Autor bemerkte: „sowohl *Streptothrix chromogena*, wie *S. alba*, sind sehr allgemein verbreitete Erdmikroben, welche besonders in und auf Pflanzenwurzeln vorkommen“. Es ist naheliegend, daß Stroh, das längere Zeit bei schlechtem Erntewetter auf einem vom Regen durchweichten Boden im Freien lagerte, leicht mit Erde beschmutzt werden kann und uns damit eine Erklärung für das oft zahlreiche Vorhandensein von *Actinomyces*-Arten auf frischer, unbenutzter Streu an die Hand gibt. Bei trockenem Wetter kann sich entwickelnder Erdstaub als Überträger von Aktinomyцeten und anderen Erdmikroorganismen bemerkbar machen. Durchschnittlich wird ein Stroh von prima Qualität keine nennenswerten Mengen von gasbildenden Milchsäurebakterien, wie *Bacterium acidilactici* Hüppe und *Bacterium coli* (Escherich) L. et N. aufweisen, sind doch auch in unseren Untersuchungen solche nur in 3 Fällen in prozentual größerer Menge aufgetreten.

Die vorgefundenen Lang- und Kurzstäbchen, Sporenbildner, Buttersäurebazillen, Sarcinen, Schimmelpilze usw. rechnen wir ihres geringen Mengenverhältnisses und sehr wechselnden Vorkommens wegen zu den Begleitorganismen, die nicht als typische Strohbewohner anzusprechen sind, da wir ihr Auftreten als mehr zufälliger Natur betrachten.

Wenn wir die Resultate unserer Untersuchungen mit denen anderer Forscher vergleichen, treffen wir manche Übereinstimmungen. Die weite Verbreitung des *Bacterium herbicola* auf grünen Pflanzenteilen

betonte D ü g g e l i , der den Organismus auch erstmals näher beschrieben hat; ebenso erwähnte ihn Z i k e s (90) in einer Arbeit über Gerstpflänzchen.

Schon die Studien von B a r t h e l (7) über das Vorkommen des *Bacterium Güntheri*, das er in der Nähe menschlicher Wohnstätten auf allen Pflanzenteilen, speziell auf grünem und trockenem Futter, antraf, dann diejenigen von W e i g m a n n (83) und G r u b e r (36) zeigten die weite Verbreitung der Milchsäurebakterien in der Natur.

B e t t e n c o u r t und B o r g e s (12) betrachten das Vorkommen von Bakterien der Coli-Gruppe auf Getreidearten und Gemüse als mehr zufälliger Natur, da dort nicht ihr normaler Aufenthaltsort sei. Damit wollen sie auch die Ubiquität des *Bact. coli* negiert wissen, welche Ansicht wir nach unseren Erfahrungen nicht ohne weiteres teilen können.

Erwähnenswert ist noch der Befund von K ü h l (55), der auf Getreidekörnern pathogene Diplokokken, die bei Hühnern eine tödlich verlaufende Krankheit hervorriefen, vorfand. In keiner Strohprobe trafen wir pathogene Mikroorganismen.

### C. Einwirkung von frischem und benutztem Stroh auf frische und sterilisierte Milch.

#### a) Versuche mit Strohprobe No. 6.

Am 17. August 1910 stellten wir in der früher beschriebenen Art und Weise eine Exkrement-Emulsion (Kot und Harn) her, der wir zwecks sofortiger Untersuchung 5 g entnahmen, um daraus die nötigen Verdünnungen für das Anlegen der Gelatine- und Agarplatten, sowie für die hohen Schichtkulturen zu gewinnen.

Gleichzeitig wurden 95 g der Exkrement-Emulsion mit 5 g der Strohprobe No. 6 in sterilem Tiegel tüchtig durchmischt, d. h. sogenannte „benutzte Streu“ hergestellt und diese in 3 Portionen in sterilen Bechergläsern, verschlossen mit Glasdeckeln, bei Zimmertemperatur (18° C) aufgestellt, um nach 12, bzw. 24 und 48 Stunden untersucht zu werden. Das gleiche Emulsion-Streu-Gemisch diente dazu, um den Versuch, Streu und Exkrement-Emulsion und sterilisierte Milch umfassend, durchzuführen, indem 10 g des Gemisches mit 100 ccm sterilem Wasser tüchtig vermengt wurden. Von dieser Aufschwemmung verbrachten wir je 1 ccm, oder mithin  $\frac{1}{10}$  g sogenannte benutzte Streu, in 6 E r l e n m e y e r kölbchen, die je 100 ccm durch Wärme sterilisierte Milch enthielten. 3 Kölbchen wurden zu 12° C, 3 zu 18° C gestellt; die Untersuchung erfolgte nach 12, 24 und 48 Stunden.

Wir wählten für diese eingehenden Untersuchungen aus dem Grunde die Strohprobe No. 6, weil dieselbe von sämtlichen geprüften Proben die höchste Keimzahl (600 Mill.) nachweisen ließ, und wir deshalb hoffen durften, mit diesem Material durch Impfen in Milch eine deutliche Beeinflussung ihrer Mikroflora zu erzielen.

Der Einfachheit halber haben wir im folgenden davon abgesehen, die bei jeder Probe auf den einzelnen Kulturarten (Gelatine- und Agarplatten, sowie in hoher Schicht-Kultur) gefundenen Keimzahlen anzuführen, da wir dies am Schlusse jedes Abschnittes zusammenfassend tabellarisch darstellten. Wir konnten uns also auf die Angabe der Gesamtkeimzahl und den prozentuellen Anteil der einzelnen Bakterienarten an derselben beschränken.

## Serie 1.

Die Mikroflora von benutztem Stroh verschiedenen Alters.

I. Der besseren Übersicht wegen möchten wir den mikroskopischen Befund von Strohprobe No. 6 nochmals in Erinnerung zurückrufen. Wir fanden pro g Stroh (siehe p. 12):

Aktinomyceten . . . . .	500 Mill.	=	83 %
Kokken . . . . .	50 „	=	8 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	30 „	=	5 %
<i>B. putidum</i> . . . . .	20 „	=	4 %
<hr/>			
600 Mill. = 100 %.			

II. Die verwendete Exkrement-Emulsion, hergestellt durch Vermischen von 70 g Kuhkot mit 30 g Kuhharn, zeigte pro g folgende Mikroflora:

<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	500 000	Keime =	45 %
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	250 000	„ =	23 %
Kokken . . . . .	200 000	„ =	18 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	70 000	„ =	6 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	50 000	„ =	5 %
<i>Bacillus mycoides</i> . . . . .	30 000	„ =	3 %

Gesamtkeimzahl 1 100 000 Keime = 100 %.

III. Die frisch hergestellte benutzte Streu, die durch innige Mischung von 95 g Exkrement-Emulsion mit 5 g Stroh gewonnen wurde, enthielt in 100 g an Mikroorganismen:

Aktinomyceten . . . . .	2 500 000 000	=	81 %
Kokken . . . . .	269 000 000	=	9 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	197 500 000	=	6 %
<i>B. putidum</i> . . . . .	100 000 000	=	3 %
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	23 750 000	=	} 1 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	4 750 000	=	
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	6 650 000	=	
<i>B. mycoides</i> . . . . .	2 850 000	=	

pro 100 g 3 104 500 000 = 100 %.

In 1 g frisch gewonnener benutzter Streu waren mithin 31 045 000 Keime nachweisbar.

III a) Benutzte Streu, 12 Stunden bei 18° C aufbewahrt.

Untersucht am 23. August 1910. Befund pro g:

Aktinomyceten . . . . .	3 000 000	Keime =	53 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	1 200 000	„ =	21 %
Kokken . . . . .	800 000	„ =	14 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	400 000	„ =	7 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	200 000	„ =	4 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	50 000	„ =	1 %

5 650 000 Keime = 100 %.

III b) Benutzte Streu, 24 Stunden bei 18° C aufbewahrt.

Untersucht am 25. August 1910. Befund pro g:

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	400 000 000	Keime =	87 %
Kokken . . . . .	60 000 000	„ =	13 %

460 000 000 Keime = 100 %.

III c) Benutzte Streu, 48 Stunden bei 18° C aufbewahrt.

Untersucht am 26. August 1910. Befund pro g:

<i>Bacterium coli</i> . . . . .	5 500 000 000	Keime =	77 %
Kokken . . . . .	1 000 000 000	„ =	14 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	500 000 000	„ =	7 %
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	150 000 000	„ =	2 %

7 150 000 000 Keime = 100 %.

Wie aus den angeführten Keimzahlen ersichtlich ist, findet bei der Aufbewahrung der hergestellten benutzten Streu bei 18° C in den ersten Stunden eine bedeutende Verminderung der Bakterienflora statt, indem in der frischen benutzten Streu pro g 31 045 000 Keime, nach 12 Stunden aber nur noch 5 650 000 Keime nachweisbar sind. Bei länger dauernder Gärzeit bei 18° C steigt die Keimmenge bedeutend an; beträgt sie doch nach 24 Std. 460 Mill. und nach 48 Stunden sogar 7150 Mill. pro g.

Was die einzelnen Spezies anbelangt, so sind im Verlaufe des Versuches die ursprünglich vorhandenen Bakterienarten in ihrem Vorkommen großem Wechsel unterworfen. Die aus dem Stroh stammenden Aktinomycete sind nach 12 Stunden in der benutzten Streu noch in beträchtlicher Menge vorhanden und teilen sich mit dem schon anfänglich in der Exkrement-Emulsion nachgewiesenen *Bact. Güntheri* L. et N., den Kokken und dem *Bact. acidilactici* Hüppe in die hauptsächlichste mikrofloristische Zusammensetzung jener Probe.

Der mangelhafte Luftzutritt, verbunden mit der begünstigenden Temperatur von 18° C, haben voraussichtlich den weiteren Verlauf der Entwicklung der Mikroorganismen derart beeinflußt, daß nach 24 Stunden Gärzeit die Hauptmenge der Spaltpilze aus dem *Bact. Güntheri* besteht, neben dem die Kokken aber doch noch ca.  $\frac{1}{8}$  der Gesamtflora ausmachen. Nach einer Gärdauer von 48 Stunden dominiert das bis anhin weder in den Ausgangsmaterialien (Stroh und Exkemente-Emulsion), noch in der kürzere Zeit gärenden benutzten Streu nachweisbare *Bact. coli* Escherich und duldet neben sich nur die Kokken in größerer Menge (14 Proz.), während *Bact. acidilactici* (7 Proz.) und *Bact. Güntheri* in den Hintergrund treten. Die im 12 Stunden alten Material vorherrschenden Aktinomyceten sind schon nach 24 Stunden sowohl, wie nach 48 Stunden nicht mehr nachweisbar. Die Fluoreszenten (*Bact. fluorescens* L. et N. und *Bact. putidum* L. et N.) sowohl wie die Sporenbildner (*Bac. mesentericus* Flügge und *Bac. mycoides* Flügge), vermochten sich in der aufgestellten benutzten Streu nicht in nachweisbarer Menge zu erhalten.

## Serie 2.

### Die Einwirkung benutzter Streu auf sterilisierte Milch.

Wir brachten die frisch hergestellte benutzte Streu, die pro g 31 045 000 Keime enthielt, in einer Menge von  $\frac{1}{10}$  g in 100 ccm sterilisierte Milch. Durch dieses Impfen wurde die ursprünglich keimfreie Milch mit einer Menge von 31 045 Keimen pro ccm versehen. Den weiteren Verlauf der Versuche und die dabei gewonnenen Resultate erschen wir aus folgender Übersicht:

Bezeichnung der Proben	IV a	IV b	IV c	IV d	IV e	IV f
Aufbewahrungstemperatur .	12° C	12° C	12° C	18° C	18° C	18° C
Zeit bis zur Untersuchung .	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Sauregrad in ccm n/10 NaOH	3,8	3,8	4,2	3,8	5,1	12,5
Makroskopisches Aussehen .	unverändert	unverändert	schwach gallertig geronnen	unverändert	unverändert	1 mm breite Serumzone unter d. Rahmdecke; an d. Oberfläche eine Haut v. <i>Oidium lactis</i>

Keimzahlen pro cem	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Mzkag. hohen Schichten	Gesamt- keimzahl
IV a	4 800	6 000	—	6 500
IV b	1 800	3 500	3 000	7 000
IV c	6 000	3 700	3 400	9 900
IV d	7 000	7 000	1 700	7 500
IV e	10 000 000	10 500 000	5 000 000	11 600 000
IV f	700 000 000	1 090 000 000	900 000 000	1 190 000 000

Bakterienflora in %	Benutzte Streu (Stroh + Ex.-Emul- sion) (s. p. 24)	IV a	IV b	IV c	IV d	IV e	IV f
		%	%	%	%	%	%
Aktinomyceten . . . . .	81	82	50	25	64	—	—
Kokken . . . . .	9	—	4	5	4	—	—
Bacterium Güntheri L. et N.	+ <sup>1)</sup>	18	43	30	20	69	75
B. acidi lactici Hueppe . . .	6	—	3	4	—	17	14
B. coli (Escherich) L. et N. .	—	—	—	—	—	3	3
B. herbicola Burri et Dügeli	—	—	—	31	1	—	—
Gelber Säurebildner, Levy . .	—	—	—	—	—	2	—
Bacterium fluorescens L. et N.	+	—	—	—	—	—	—
B. putidum L. et N. . . . .	3	—	—	—	—	—	—
Bacillus mesentericus Flügge.	+	—	—	5	4	—	3
B. mycoides Flügge . . . . .	+	—	—	—	—	—	5
B. putrificus Bienstock . . .	—	—	—	—	7	9	—
	100	100	100	100	100	100	100

Wie aus der Übersicht der eruierten Keimzahlen hervorgeht, wird ein Teil der mit der benutzten Streu in die sterilisierte Milch gebrachten Spaltpilze zugrunde gerichtet, oder doch so weitgehend geschwächt, daß sie auf den künstlichen Nährböden keine Kolonien mehr zu bilden vermögen; geht doch die eruierte Keimzahl bei 12° C in den ersten 12 Stunden nach der Einimpfung von 31 045 auf 6 500 und bei 18° C auf 7500 zurück.

Diese Auslese der Spaltpilze der benutzten Streu durch die Nährflüssigkeit Milch geht so weit, daß bei 12° C nach 48 stündiger Versuchsdauer die ursprünglich vorhandene Keimzahl bei weitem noch nicht erreicht ist. Bei einer Aufbewahrungstemperatur von 18° C dagegen setzt bald eine kräftige Vermehrung ein, so daß nach 24 Stunden schon das 374-, nach 48 Stunden sogar das 38 331 fache der ursprünglichen Keimmenge im cem Milch nachweisbar ist.

Wie Probe IVa zeigt, ist die sterile Milch eine den Aktinomyceten nicht ungünstige Nährflüssigkeit und auch die tiefe Temperatur sagt ihnen zu, indes sie sich bei 18° C nur noch anfangs zu halten vermögen, um später der Konkurrenz anderer Arten zu unterliegen. Den größten Vorteil aus der Verpflanzung in die sterile Milch hat zweifelsohne das *Bact. Güntheri* gezogen, das bei 12° C nach 24 Stunden fast die Hälfte aller Keime ausmacht und bei 18° C bei stetig steigender Tendenz nach 2 Tagen sogar 75 Proz. aller Spaltpilze umfaßt. Das Gallertigwerden der am längsten aufgestellten Milchproben, nebst dem entsprechend hohen Säuregrad, ist auf seine Tätigkeit

<sup>1)</sup> + bedeutet: Die Art ist vorhanden, macht aber weniger als 1 Proz. der Gesamtflora aus.



zurückzuführen. Mit dem üppigen Gedeihen des *Bact. Güntheri* vermag das in der Exkrement-Emulsion reichlich vorhandene *Bact. acidilactici* nicht Schritt zu halten, wenn auch bei Probe IVd, IVe und IVf die höhere Temperatur etwas wachstumsfördernd wirkt. Vom *Bact. herbicola* und dem Gelben Säurebildner, die beide in der benutzten Streu nicht nachweisbar waren, nehmen wir an, daß sie dort doch vorhanden gewesen sind, wenn auch nur in Quantitäten, die bis zu einem prozentuellen Nachweis mittels der angewendeten Verdünnungen nicht hinreichten. Durch die Annahme analoger Verhältnisse erklären wir uns das Auftreten von *Bact. coli* und *Bact. putrificus*, deren ursprünglicher Standort wohl in der Exkrement-Emulsion zu suchen wäre.

Wenig zur Geltung sind Kokken und Sporenbildner (*Bact. mesentericus* und *Bact. mycoides*) gekommen; ganz verschwunden sind die Fluorescenten.

Der in der Übersicht mit No. VI a—VI f bezeichnete Versuch, das Einimpfen von benutzter Streu in frische Milch betreffend, kam bei Strohprobe No. 6 in Wegfall.

### Serie 3.

#### Die Einwirkung von frischem Stroh auf frische Milch.

Die für diese Versuchsreihe benutzte Milch war eine Mischmilch von 10 Kühen, die am 20. Juni 1910 auf dem Gutsbetriebe der landwirtschaftlichen Schule Strickhof-Zürich abgeholt und sofort bakteriologisch geprüft wurde. Makroskopisch normal aussehend, zeigte die Milch einen Säuregrad von 3,3 ccm n/10 NaOH.

Diese frische Milch wurde zu je 100 ccm in 4 Erlenmeyerkölbchen verteilt, jedes davon mit  $\frac{1}{10}$  g von Strohprobe No. 6 geimpft und je 2 Kölbchen zu 12° C bzw. 18° C gestellt.

#### Bakterienflora der frischen Milch 1 pro ccm:

##### Quantitativ:

Gelatineplatten . . . . .	770 000 Keime
Agarplatten . . . . .	820 000 „
Milchzuckeragar hohe Schicht . . .	200 000 „

Gesamtkeimzahl 1 180 000 Keime.

##### Qualitativ:

Kokken . . . . .	820 000 = 69 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	200 000 = 17 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . .	100 000 = 9 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	60 000 = 5 %
	1 180 000 = 100 %.

#### Vorprüfung.

Bezeichnung der Proben	VII a	VII b	VII c	VII d
Aufbewahrungstemperatur . .	12° C	12° C	18° C	18° C
Zeit bis zur Untersuchung .	24 Std.	makroskop. Veränderung nach 10 Tg.	24 Std.	makroskop. Veränderung nach 3 Tg.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH	3,5	15,8	15,4	18

#### Makroskopisches Aussehen:

VII a nach 24 Std.: Unverändert.

VII b nach 10 Tagen: Gleichmäßige gallertige Gerinnung; unter der intakten

Rahmdecke 1 mm breite Serumzone; Schimmelgeruch von *Oidium lactis* herührend. Geschmack sauer.

VII c nach 24 Stunden: Gleichmäßige gallertige Gerinnung; Rahmdecke intakt. Geruch und Geschmack säuerlich.

VII d nach 3 Tagen: Gallertige Gerinnung, wobei Coagulum und Rahm von einzelnen Gasblasen durchsetzt waren; ca. 2 mm breite Serumzone; Rahm schmutzig gelblich. Geschmack sauer.

#### Keimzahlen pro ccm Milch:

	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Mzkag. hohen Schichten	Gesamt- keimzahl
VII a	7 000 000	6 200 000	600 000	8 200 000
VII b	840 000 000	750 000 000	300 000 000	1 200 000 000
VII c	1 020 000 000	1 100 000 000	600 000 000	1 300 000 000
VII d	2 230 000 000	2 300 000 000	670 000 000	2 730 000 000

Das zum Impfen der frischen Milch verwendete Stroh ( $\frac{1}{10}$  g auf 100 ccm) enthielt pro g 600 Mill. Spaltpilze, so daß also die pro ccm schon 1 180 000 Keime enthaltende Milch durch das Impfen noch 600 000 Mikroorganismen zugefügt erhielt.

#### Bakterienflora:

	Stroh No. 6 %	Frische Milch %	VII a %	VII b %	VII c %	VII d %
Aktinomyceten . . . . .	83	—	—	—	—	—
Kokken . . . . .	8	69	63	—	32	11
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	—	17	37	53	54	69
<i>B. acidi lactici</i> . . . . .	5	5	—	9	—	12
<i>B. putidum</i> . . . . .	4	—	—	10	—	—
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	—	—	—	20	2	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt).	—	9	—	8	12	8

Die Kühlung der Milch auf 12° C hat die Keimvermehrung wesentlich hinten gehalten, wie uns ein Vergleich von Probe VII a mit VII c deutlich beweist; steigt doch bei 18° C innerhalb der gleichen Zeit von 24 Stunden, gegenüber bei 12° C, die Zahl der Bakterien um das rund 159 fache. Während nach 10 Tagen bei der tiefen Temperatur pro ccm Milch 1200 Mill. Keime vorhanden sind, wird bei der höheren Temperatur schon in 3 Tagen mehr als die doppelte Zahl erreicht.

Was nun den Einfluß des frischen Strohes auf die Qualität der Mikroflora der frischen Milch betrifft, so sehen wir aus obiger Tabelle, daß bei 12° C nach 24 Stunden ein solcher nicht zu konstatieren ist, da prozentual die Kokken dem in frischer Milch gefundenen Resultate nahe kommen und das *Bacterium Güntheri*, ebenfalls schon anfänglich in der Milch vorhanden, seine Position nur um das Doppelte verstärkte. Eine nachweisbare Vermehrung der mit dem Stroh eingepfundenen Aktinomyceten und des eingebrachten *Bacterium acidi lactici* oder des *Bact. putidum* tritt nicht zutage. Bei Probe VII b verrät sich die Wirksamkeit des *Bacterium Güntheri*, das ja reichlich die Hälfte aller Keime ausmacht, durch die Überführung des Milchzuckers in Milchsäure und der damit verbundenen gleichmäßigen gallertigen Gerinnung der Milch. Das Auftreten des *Bact. acidi lactici* in den Proben VII b und VII d verwundert uns nicht, da diese Art sowohl im Stroh als in der Milch von Anfang an dagewesen ist, ohne hingegen bei Probe VII a und VII c mikroskopisch nach-

gewiesen werden zu können. Es braucht längere Zeit für seine starke Entwicklung, bevorzugt auch höhere Wärmegrade, wie das Prüfungsergebnis bei VII d zeigt, in welcher Probe die in der Milch auftretenden Gasblasen, herrührend von der Vergärung des Milchzuckers zu Milchsäure, unter Abspaltung von Kohlensäure und Wasserstoff, auf seine Tätigkeit zurückgeführt werden müssen. *Bact. fluorescens* und *Bact. putidum* fühlen sich bei tiefen Temperaturen speziell wohl und da dabei die Konkurrenz der Milchsäurebakterien nicht mehr übermäßig zu fürchten ist, können sie infolgedessen in respektabler Menge auftreten, wie uns die 30 Proz. bei VII b deutlich vor Augen führen.

Bei einer Aufbewahrungstemperatur von 18° C sind nach 24 Stunden in der Milch noch beträchtliche Mengen Kokken (32 Proz.) vorhanden, sowie einige Fluorescenten und Kurzstäbchen, indes das „G ü n t h e r i“, begünstigt durch die Temperatur, kräftig heranwuchs, Milchsäure bildete, gallertige Gerinnung hervorrief und dadurch schon in kurzer Zeit das makroskopische Aussehen der Milch veränderte. Da unter normalen Verhältnissen bei der Zeitdauer von 24 Stunden und 3 Tagen und der Temperatur von 18° C eine Gerinnung von Milch möglich ist und außerdem die Zusammensetzung der Bakterienflora keine spezifischen Vertreter des eingebrachten Impfmateri als (ausgenommen die Kokken, die auch im Stroh zu 8 Proz. anzutreffen sind) aufwies, so erscheint uns ein Einfluß der mit dem Stroh in die Milch gebrachten Spaltpilze auf die dort stattfindenden Umsetzungen recht unwahrscheinlich.

Als Ursache der gallertigen Gerinnung der Probe VII d ist wiederum das *Bacterium Güntheri* anzusehen, wohl im Vereine mit dem *Bact. acidilactici*, das, ursprünglich sowohl in der Milch als im Stroh vorhanden, eine Anreicherung durch die ihm zusagende Wärme von 18° C erfahren hat. Eine solche Förderung von Gasbildnern in der Milch ist in der Praxis durch Fernhaltung irgendwelcher Infektion, reinliche Gewinnung und Tiefkühlung der Milch tunlichst zu vermeiden, da, wie in unserem Falle, eine *Bact. acidilactici* enthaltende Streu das Auftreten gasproduzierender Spaltpilze ermöglichen kann. Dadurch wird aber die Qualität der Milch beeinträchtigt, indem ihre Verwendbarkeit sowohl als Säuglingsnahrung, wie als Rohprodukt für die Käsefabrikation, auf Bedenken stoßen muß.

#### Serie 4.

#### Die Einwirkung von frischem Stroh auf sterilisierte Milch.

Am 23. Juni 1910 wurden 4 Erlenmeyerkölbchen, je 100 ccm sterilisierte Milch enthaltend, mit je  $\frac{1}{10}$  g Stroh geimpft und 2 zu 12° C, die anderen zu 18° C gestellt; die eine Hälfte der Proben gelangte nach 24 Stunden die andere dagegen erst dann zur bakteriologischen Untersuchung, wenn eine makroskopische Veränderung äußerlich wahrnehmbar war.

#### Vorprüfung.

Bezeichnung der Proben. . . . .	VIII a	VIII b	VIII c	VIII d
Aufbewahrungstemperatur . . . . .	12° C	12° C	18° C	18° C
Zeit bis zur Untersuchung . . . . .	24 Std.	14 Tg.	24 Std.	4 Tg.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH . . . .	3,3	10	5,4	19,5

#### Makroskopisches Aussehen:

VIII a: Milch unverändert.

VIII b: Milch feinflockig-gallertig geronnen, Coagulum von einzelnen Gasblasen durchsetzt, feine Serumzone, die Rahmdecke zeigt hellgelbe Färbung. Saurer Geschmack und käsiger Geruch wahrnehmbar.

VIII c: Milch unverändert.

VIII d: Die Probe zeigt das typische Bild einer geblähten Milch. Rahm und Gerinnsel sind stark mit Gasblasen durchsetzt, wobei letzteres eine zähe kompakte Masse bildet; außerdem ist die intensive Ausscheidung von hellgelbem Serum zu konstatieren. Geschmack sauer.

#### Keimzahlen pro cem Milch:

Bezeichnung der Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Mzkag. hohen Schichten	Gesamtkeimzahl
VIII a	2 200	85 000	—	85 600
VIII b	540 000 000	450 000 000	110 000 000	650 000 000
VIII c	18 000 000	15 000 000	20 000 000	39 000 000
VIII d	600 000 000	630 000 000	3 000 000 000	3 970 000 000

#### Bakterienflora:

	Stroh No. 6 %	VIII a %	VIII b %	VIII c %	VIII d %
Aktinomyceten . . . . .	83	70	—	—	—
Kokken . . . . .	8	12	—	8	—
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	5	—	37	3	63
<i>B. putidum</i> . . . . .	4	—	—	—	11
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	—	1	46	2	13
<i>B. herbicola</i> . . . . .	—	6	—	36	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt).	—	11	—	—	—
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	—	—	17	51	—
<i>B. coli</i> . . . . .	—	—	—	—	13

Die Keimzahlen der Probe VIII a weisen uns darauf hin, daß tiefe Temperaturen die Intensität der Lebensprozesse, so auch die Teilung der Spaltpilze, bedeutend verlangsamt; beträgt doch die Keimmenge der Probe VIII a 85 600, indes in der gleichen Zeit die mit gleichen Mengen Stroh geimpfte Probe VIII c die stattliche Zahl von 39 Mill. Mikroorganismen pro cem aufweist. Lassen wir den Mikroorganismen Zeit zu ihrer Entwicklung, so wird nach dem Gesagten logischerweise der Zeitpunkt, da Nahrungsmangel, oder die Menge der ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte, einer weiteren Keimvermehrung die obere Grenze ziehen, bei 18° C Aufbewahrungstemperatur früher auftreten als bei 12° C. Die Differenz zwischen dem Auftreten von makroskopischen Veränderungen in den beiden Proben VIII b und VIII d betrug in diesem Falle 10 Tage.

Über die in den einzelnen Proben auftretenden Keimspezies ist folgendes zu bemerken:

Die im Stroh reichlich vorhandenen Aktinomyceten konnten sich nach dem Einimpfen in die Milch darin bei 12° C nur kurze Zeit halten, um dann nicht wieder aufzutauchen.

Dagegen machten wir die interessante Beobachtung, daß in allen Proben, offenbar durch den Nährboden (sterile Milch) begünstigt, je nach Zeit und Temperatur verschiedene Arten von Bakterien auftraten, die vorher in prozentual nicht faßbaren Mengen die Mikroflora des Strohes begleiteten. Zu dieser Kategorie gehört einmal das dem *Bacterium putidum* nahestehende *Bacterium fluorescens* (VIII b), die nicht näher studierten Kurzstäbchen, das *Bacterium herbicola aureum*, *Bact. Güntheri* und *Bacterium coli*.

*Bacterium Güntheri* bewirkte bei VIII b die gallertige Gerinnung der Milch, während die Gasbildung dem anwesenden *Bact. acidilactici* zugeschrieben werden mußte und für die Rahmdeckenfärbung wohl die Fluorescenten in Betracht fielen.

Für *Bacterium acidilactici* und *Bacterium coli* ist eine bei höherer Temperatur aufgestellte Milch immer ein günstiger Nährboden, der direkt auslesend auf diese Arten wirken kann. Wir sehen dies auch bei Probe VIII d, wo die Gasbildner dominierend vorkamen, innerhalb 3 Tagen eine Säurezunahme von 16,5 ccm n/10 NaOH bewirkten und der Probe den ausgesprochen geblähten Charakter verliehen.

#### b) Versuche mit Strohprobe No. 17.

In gleicher Weise, wie dies früher bei Strohprobe No. 6 geschehen war, wurde am 12. Mai 1911 vorerst eine Exkrement-Emulsion hergestellt und bakteriologisch untersucht, die als Ausgangspunkt für die Versuchsserie Streu + Emulsion und Streu + Emulsion + sterile Milch diente.

Die Verschiedenheit der Bakterienarten im Hinblick auf ihr physiologisches Verhalten und namentlich das reichliche Vorkommen von Gasbildnern in Strohprobe No. 17 bewogen uns, diese zur Durchführung der 2. Versuchsreihe zu benutzen.

Da wir in einem späteren Abschnitte alle in dieser Arbeit enthaltenen, die Exkrement-Emulsionen betreffenden Untersuchungen im Zusammenhang besprechen werden, können wir uns jeweils am Anfang der in Betracht fallenden Serien, wo die bakteriologische Prüfung einer Emulsion Erwähnung findet, kurz fassen. Auf gleiche Weise verfahren wir bei der Behandlung der Untersuchungen über frische Milch, um dadurch unnötige Wiederholungen möglichst auszuschließen.

Diese II. kombinierte Versuchsreihe aus dem Kapitel Stroh wurde in allen im Schema mit I.—VIII. bezeichneten Nummern durchgeführt.

Der Übersicht halber haben wir den Modus, die in Verwendung kommende Strohprobe in ihrer bakteriologischen Zusammensetzung jeweils zu Beginn einer Reihe nochmals aufzuführen, stetsfort beibehalten.

#### Bakteriologische Zusammensetzung der Strohprobe No. 17 (s. p. 16):

Aktinomyceten . . . . .	70 Mill.	= 34 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	60 „	= 29 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	30 „	= 15 %
<i>Bacterium herbicola</i> . . . . .	30 „	= 14 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	10 „	= 5 %
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	5 „	= 3 %
	205 Mill.	= 100 %.

#### Mikroflora der Exk.-Emulsion 2 pro g: Untersucht am 16. Mai 1911.

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	1 000 000 Keime	= 75 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	250 000 „	= 19 %
Kokken . . . . .	50 000 „	= 4 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	30 000 „	= 2 %
	1 330 000 Keime	= 100 %.

Bakteriologische Zusammensetzung von 100 g benutzter Streu, bestehend aus 95 g Exk.-Emulsion 2 und 5 g der Strohprobe No. 17:

Aktinomyceten . . . . .	350 000 000 =	30 %
Kokken . . . . .	4 750 000 =	+
Bacterium Güntheri . . . . .	120 000 000 =	10 %
B. acidilactici . . . . .	300 000 000 =	26 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	150 000 000 =	13 %
Bacterium herbicola aureum . . . . .	150 000 000 =	13 %
B. fluorescens . . . . .	52 850 000 =	5 %
Bacillus mesentericus . . . . .	23 750 000 =	3 %

Gesamtzahl 1 151 350 000 = 100 %.

1 g der frisch hergestellten benutzten Streu enthält somit 11 513 500 Keime.

### Serie 5.

Die Mikroflora von benutztem Stroh verschiedenen Alters.  
Aufbewahrungstemperatur 18° C. Keimzahlen in Millionen pro gr:

	Nach 12 Std.	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.
Auf Gelatineplatten . . . . .	5,5	2700	9200
Auf Agarplatten . . . . .	1,2	2500	6000
In Mzkag. hoher Schicht . . . . .	0,4	300	3800
Gesamtkeimzahl . . . . .	6,02	3270	14500

Die oben angeführten Zahlen zeigen deutlich, wie bei der Aufbewahrung benutzter Streu bei 18° C zunächst ein Zurückgehen der Keimzahl auf ca. die Hälfte erfolgt, dann aber eine rapide Vermehrung zu konstatieren ist, so daß nach 48 stündigem Aufenthalt die Keimzahl auf das 126 fache des frischen Materials angestiegen ist. Für Milch wird eine Infektion durch derart an Bakterien angereicherten Dünger entsprechend gefährlicher werden können, als dies bei ganz frischem Kot-Harngemisch der Fall wäre, wo wir diesmal pro g „nur“ 1,3 Mill. Keime antrafen, eine geringe Zahl, verglichen mit den 14 500 Mill. am Schlusse der Versuchsserie.

Bakterienflora	Nach 12 Std. %	Nach 24 Std. %	Nach 48 Std. %
Kokken . . . . .	33	83	7
Bacterium Güntheri . . . . .	42	—	17
B. acidilactici . . . . .	8	2	10
B. aërogenes . . . . .	—	15	50
B. fluorescens . . . . .	—	—	3
B. herbicola . . . . .	—	—	3
Bacillus megatherium . . . . .	3	—	—
B. mesentericus . . . . .	2	—	—
B. putrificus . . . . .	—	—	10
Aktinomyceten . . . . .	12	—	—
	100	100	100

Vergleichen wir die in obiger Tabelle aufgestellte Verteilung der Keimarten mit der ursprünglich in der frischen benutzten Streu vorhandenen, so ist daraus zu ersehen, daß im Laufe von 2 Tagen in dem Gemisch von Streu + Emulsion ein reger Wechsel, ein Kommen und Gehen innerhalb der die Mikroflora einer Probe ausmachenden Bakterienarten vor sich gegangen ist.

In der 12 Stunden alten Probe vermag sich das Bact. Güntheri am meisten Geltung zu verschaffen; stark vertreten sind auch die Kokken,



die zu Anfang des Versuches nur in Spuren vorhanden waren. Von den Aktinomycceten, die späterhin ganz verschwinden, treffen wir in der 12 Stunden alten Probe noch 12 Proz.; noch schwächer an Zahl sind das *Bact. acidilactici*, sowie *Bac. mesentericus* und *Bac. megatherium* vertreten.

Neben den schon erwähnten, sich kräftig vermehrenden Kokken finden wir nach 24 Stunden das *Bacterium aërogenes* in üppiger Entwicklung, die sich in den nächsten 24 Stunden noch steigerte, da in der 2 Tage alten Probe die Hälfte aller Keime dieser Spezies angehören. Vereint mit dem *Bacterium acidilactici* sind daselbst  $\frac{3}{5}$  aller Keime vom Typus der gasbildenden Milchsäurebakterien. In den 48 Stunden alten Proben benutzter Streu kommt auch *Bacterium Güntheri* wieder zum Vorschein, ebenso 2 vormals im Stroh gefundene Arten: *Bact. herbicola* und *Bact. fluorescens*. Der in Exkrementen häufig anzutreffende, Eiweißzersetzen hervorrufende, anaërobe *Bacillus putrificus* ist, ungeachtet der großen Zahl der für ihn durch Säureproduktion antagonistisch wirkenden Gasbildner, zur Entfaltung gelangt.

Schlußfolgernd können wir aus dieser Serie ersehen, daß die Mikroflora des Strohes sich höchstens in den ersten 12 Stunden neben derjenigen der Exkremente-Emulsion einigermaßen behaupten kann, letztere somit im weiteren Verlaufe der in diesen Proben „benutzter Streu“ sich abspielenden Umsetzungen die Führung übernimmt.

#### Serie 6.

Die Einwirkung benutzten Strohes auf sterilisierte Milch.

Je  $\frac{1}{100}$  g der auf p. 32 in ihrer bakteriologischen Zusammensetzung charakterisierten benutzten Streu wurde in 6 Erlenmeyerkölbchen mit je 100 ccm sterilisierter Milch gebracht und am 30. Mai 1911 3 Kölbchen zu 12° C, 3 Kölbchen zu 18° C gestellt. Die bakteriologische Untersuchung erfolgte nach Verlauf von 12, 24 bzw. 48 Stunden.

Durch das Impfen der sterilen Milch mit frischer, benutzter Streu wurden in dieselbe pro ccm 1150 Keime gebracht.

#### Vorprüfung.

Bezeichnung der Proben .	IV a	IV b	IV c	IV d	IV e	IV f
Aufbewahrungstemperatur .	12° C	12° C	12° C	18° C	18° C	18° C
Zeit bis zur Untersuchung	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH	4,6	4,5	4,4	4,4	5	6,2
Makroskopisches Aussehen	Normal	Normal	Normal	Normal	Serumzone unt. dem Rahm	Normal

#### Keimzahlen pro ccm.

Bezeichnung der Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In Mzkag. hoher Schicht	Gesamtkeimzahl
IV a	1 700	900	400	2 100
IV b	1 800	1 900	900	3 400
IV c	1 300 000	700 000	1 000 000	1 600 000
IV d	200	400	2 500	3 100
IV e	2 200 000	1 200 000	1 000 000	2 500 000
IV f	120 000 000	23 000 000	200 000 000	205 000 000

Zweite Abt. Bd. 47.

3

## Bakterienflora:

	Benutzte Streu %	IV a %	IV b %	IV c %	IV d %	IV e %	IV f %
Aktinomyceten . . . . .	30	—	—	—	—	—	—
Kokken . . . . .	+	—	50	25	13	—	—
<i>Bacterium herbicola</i> . . . . .	13	—	—	—	—	—	—
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	5	—	—	—	—	—	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	13	—	—	—	—	—	—
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	10	19	20	—	81	8	—
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	26	—	6	56	—	—	83
<i>B. aërogenes</i> . . . . .	—	—	3	—	—	48	2
Kurzstäbchen, orange Kolonien bildend . . . . .	—	81	—	—	—	—	—
<i>Bacterium prodigiosum</i> . . . . .	—	—	18	—	—	—	—
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	3	—	3	—	6	44	—
<i>B. putrificus</i> . . . . .	—	—	—	19	—	—	15
	100	100	100	100	100	100	100

Die Keimzahlen dieser Serie zeigen wiederum klar, wie erhöhte Temperatur fördernd auf die Vermehrung der gewöhnlichen, in Stroh und Exkrementen vorkommenden Keime zu wirken vermag. Eine Dezimierung der in die sterilisierte Milch gebrachten Keime von Stroh und Exkrementen scheint aber hier nicht stattgefunden zu haben, wenigstens ist sie nicht zahlenmäßig nachweisbar. Daß diese Keimanreicherung für die einzelnen Arten keine gleichmäßige ist, sondern daß auch hier, unter dem Einflusse der Temperatur, eine gewisse Selektion stattfindet, lehrt uns eine kurze Betrachtung der prozentualen Verteilung der Bakterien in den einzelnen Proben.

Die den Hauptbestandteil der Mikroflora des Strohes ausmachenden Aktinomyceten finden in der sterilen Milch keine ihnen zusagende Lebensbedingungen; sie kommen in keiner der geimpften Proben wieder zum Vorschein. Die bei 12° C aufgestellte Milch enthielt nach 12 Stunden zu  $\frac{1}{6}$  *Bacterium Güntheri* und in größerer Menge ein unbewegliches, kokkenähnliches Kurzstäbchen, das auf Gelatine- und Agarplatten orangefarbene Kolonien bildete; die Gelatine wurde nicht verflüssigt. In sterile Milch verbracht, vermochte der Mikroorganismus selbst nach 3 Wochen, außer einer leichten Rotfärbung des Rahmes, keine Veränderungen in dieser Nährflüssigkeit hervorzurufen. Sein Auftreten blieb auf eine Probe beschränkt.

Die Hälfte aller Keime von Probe IV b waren Kokken, dann folgte *Bacterium Güntheri*, das, durch Stroh und Emulsion in sterile Milch eingeimpft, meistens intensive Anreicherung erfährt, wie in dieser Serie namentlich Probe IV d klarlegt. Nach 10 Tagen fand auf den Gelatineplatten noch Wachstum von *Bacterium prodigiosum* statt, das uns durch seine langsame Koloniebildung aufgefallen ist; dabei produzierte dieser Pigmentbildner jedoch intensiv roten Farbstoff und sowohl das mikroskopische Aussehen, wie auch die Art des Wachstums auf verschiedenen Nährböden, entsprach durchaus der Artdiagnose.

Probe IV b wies in bescheidenem Maße *Bacterium acidilactici* auf, das sich in der 2 Tage bei 12° C aufgestellten Probe derart entwickelte, daß 56 Proz. aller Keime ihm zukamen. Im Gegensatz dazu erfuhren die Kokken eine Reduktion auf die Hälfte ihres Vorkommens, indem

sie prozentual von 50 auf 25 zurückgingen. Die geringe Säurebildung in der Milch ermöglichte es dem *Bacillus putrificus*, in beiden, 48 Stunden alten Proben zur Geltung zu kommen. Die bei 18° C aufgestellte Milch wurde nach 24 und 48 Stunden stark von Gasbildnern: *Bacterium acidilactici* und *Bacterium aërogenes* durchsetzt. Beide Arten zeigten in diesem Falle ein geschwächtes Säure- und Gasbildungsvermögen. Die Serumausscheidung in Probe IV e ist wohl dem auch auf den Gelatineplatten stark peptonisierenden, zahlreich anzutreffenden, aus der Exk.-Emulsion stammenden *Bacillus mesentericus* zuzuschreiben. Bemerkenswert ist ferner, daß das *Bacterium Güntheri* in der 12 Stunden bei 18° C aufgestellten Milchprobe kräftig gedieh.

## Serie 7.

## Die Einwirkung benutzten Strohes auf frische Milch.

Als Ausgangsmaterial dieser Serie diente einerseits wiederum Strohprobe No. 17, andererseits eine Mischmilch aus dem Gutsbetrieb der landwirtschaftlichen Schule Strickhof bei Zürich und eine in hergebrachter Weise zubereitete Exk.-Emulsion.

Die am 16. Mai 1911 vorgenommene Untersuchung der frischen Milch 2 ergab folgendes Resultat:

## In quantitativer Hinsicht:

	Bakterien pro ccm
Gelatineplatten . . . . .	1 500 000
Agarplatten . . . . .	680 000
Milchzuckeragar hohe Schicht . . .	300 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	2 380 000

## In qualitativer Hinsicht:

Langstäbchen, rote Kolonien bildend . . .	1 180 000 = 50 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . .	310 000 = 13 %
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	300 000 = 13 %
Kurzstäbchen, rote Kolonien bildend . . .	150 000 = 6 %
Kokken . . . . .	140 000 = 6 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . .	120 000 = 5 %
<i>B. aërogenes</i> . . . . .	100 000 = 4 %
Sproßpilze . . . . .	80 000 = 3 %
	<hr/> 2 380 000 = 100 %.

Die hohe Keimzahl pro ccm, wie die große Zahl verschiedener Arten ließen uns erkennen, daß wir nicht gerade eine Mustermilch vor uns hatten. Als Ursache dieser Erscheinung wurde uns die Verfütterung von jungem, schwach gärendem Gras bekannt, das bei manchen für die Milchlieferrung in Betracht fallenden Kühen leichten Durchfall erzeugte. Dieses Vorkommnis zeigt uns den Zusammenhang, der zwischen Verdauungsstörung einerseits und Milchqualität in bakteriologischer Hinsicht andererseits besteht.

Ein bewegliches, schlankes Langstäbchen von den Dimensionen 3—4  $\mu$   $\times$  1  $\mu$ , das im mikroskopischen Bilde bei Ruhelage deutliche Abstände zwischen den einzelnen Individuen zeigte und damit den Schleimbildner verriet, machte die Hälfte aller Keime aus. Auf Gelatine- und Agarplattenkulturen in kreisrunden, flachen, fettglänzenden, orange- bis weinroten Kolonien wachsend, vermochte es die Gelatine langsam zu peptonisieren, welche Eigenschaft sich auch in einer damit geimpften, bei Zimmertemperatur auf-

3\*

gestellten, sterilisierten Milch nach 10 Tagen durch zunehmende Mächtigkeit der Serumzone zeigte. Gleichzeitig wies die Rahmdecke eine leichte Rotfärbung auf.

Auf Kartoffel war nach 5 Tagen ein orangeroter, flacher, fettglänzender Belag zu sehen.

Das reichliche Vorkommen von *Bacterium acidilactici* und anderer, für die Milch nicht ohne weiteres als harmlos zu bezeichnenden Arten, auf Kosten der mehr oder weniger harmlosen Kokken, spricht nicht für eine gute Milchqualität.

Wenn die Milch trotzdem in dieser Serie Benutzung fand, so war die Beantwortung der uns interessierenden Frage, ob die in der frischen Milch erwünschten Spaltpilzspezies, speziell das *Bacterium Güntheri*, im Laufe des Versuches doch noch die Oberhand gewinnen könnten und so den Gärverlauf zu einem normalen gestalten würden, oder ob sich das ungünstige Bild der Mikroflora durch die Einimpfung von Streu und Exk.-Emulsion noch verschärfen werde, ausschlaggebend.

Gleichzeitig mit der Untersuchung der frischen Milch kam diejenige der Exkrement-Emulsion 3 zur Durchführung, die folgendermaßen ausfiel:

In quantitativer Hinsicht:

	Bakterien pro g
Gelatineplatten . . . . .	260 000
Agarplatten . . . . .	430 000
Milchzuckeragar hohe Schicht . . .	850 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	960 000

In qualitativer Hinsicht:

Kokken . . . . .	500 000	Keime =	52 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	300 000	„ =	31 %
<i>B. aërogenes</i> . . . . .	110 000	„ =	12 %
<i>Bacillus putrificus</i> . . . . .	50 000	„ =	5 %
<hr/>			
	960 000	Keime =	100 %.

Die zur Impfung der Milch verwendete benutzte Streu bestand aus einer innigen Mischung von 5 g der Strohprobe No. 17 und 95 g der Exkrement-Emulsion 3.

In 100 g des Gemisches waren folgende Mikroorganismen nachweisbar:

Aktinomyceten . . . . .	350 000 000 =	31 %
Kokken . . . . .	47 500 000 =	4 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	328 500 000 =	28 %
<i>B. aërogenes</i> . . . . .	10 450 000 =	1 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	150 000 000 =	13 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	50 000 000 =	4 %
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	25 000 000 =	2 %
Nicht näher verfolgte Kurzstäbchen . . .	150 000 000 =	13 %
<i>Bacillus putrificus</i> . . . . .	4 750 000 =	4 %

Gesamtzahl 1 116 200 000 = 100 %.

Sofort nach der Ankunft der Milch im Laboratorium wurden 6 sterile Erlenmeyerkölbchen mit je 100 ccm frischer Milch beschickt, von der frischen benutzten Streu einem jeden  $\frac{1}{100}$  g zugesetzt und je 3 zu 12° C bzw. 18° C gestellt. Durch das Zufügen der frischen benutzten Streu zur Milch in der oben angegebenen Menge brachten wir pro ccm Milch 111 620 Keime hinzu. Nach Verfluß von 12, 24 bzw. 48 Stunden wurden die Proben in üblicher Weise untersucht.

## Vorprüfung.

Bezeichnung der Proben . .	VI a	VI b	VI c	VI d	VI e	VI f
Aufbewahrungstemperatur .	12° C	12° C	12° C	18° C	18° C	18° C
Zeit bis zur Untersuchung .	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in cem n/10 NaOH	3,3	3,5	7,6	3,4	6,4	18,2

## Makroskopisches Aussehen:

Probe VI a: Unverändert.

Probe VI b: Unverändert.

Probe VI c: Rahm intakt, Kasein teilweise fein gallertig geronnen.

Probe VI d: Unverändert.

Probe VI e: Rahm teilweise durch produziertes Gas emporgetrieben. Flüssigkeit unverändert, Geschmack säuerlich.

Probe VI f: Milch zeigt typische Blähung, indem der Rahm von Gasblasen durchlöchert ist und das Kasein als feste Masse oben auf dem gelblichgrünen Serum schwimmt. Geschmack sauer.

## Die Anzahl der Keime betrug pro cem bei:

	Gelatineplatten	Agarplatten	Mzkag. hoher Schicht	Gesamtkeimzahl
Probe VI a	478 000	140 000	220 000	483 000
Probe VI b	30 000 000	50 000 000	260 000 000	266 000 000
Probe VI c	500 000 000	500 000 000	—	500 000 000
Probe VI d	14 000 000	16 000 000	2 000 000	22 100 000
Probe VI e	340 000 000	200 000 000	300 000 000	540 000 000
Probe VI f	1 400 000 000	670 000 000	500 000 000	1 950 000 000

Die Verteilung der Mikroflora auf die einzelnen Bakterienarten war folgende:

	Benutzte Streu %	Frische Milch %	VI a %	VI b %	VI c %	VI d %	VI e %	VI f %
Aktinomyceten . . . .	31	—	—	—	—	—	—	—
Kokken . . . . .	4	6	—	—	—	—	—	2
Bacterium herbicola . .	13	—	—	1	—	—	—	—
B. fluorescens . . . .	4	5	2	1	6	2	4	5
B. putidum . . . . .	—	—	—	—	—	—	—	3
Kurzstäbchen . . . .	13	—	—	—	—	—	—	—
Bacterium Güntheri . .	2	13	—	—	—	7	37	23
B. acidi lactici . . . .	28	13	97	98	62	71	59	62
B. aërogenes . . . . .	1	4	—	—	20	16	—	—
B. coli . . . . .	—	—	—	—	12	4	—	5
Langstäbchen, in roten Kolonien wachsend .	—	50	—	—	—	—	—	—
Kurzstäbchen, in roten Kolonien wachsend .	—	6	1	—	—	—	—	—
Bacillus putrificus . .	4	—	—	—	—	—	—	—
Saccharomyceten . . .	—	3	—	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100	100	100

Die dem Bakteriologen längst bekannte Tatsache, daß Kühllhaltung einer Milch dem Wachstum der darin enthaltenen Mikroflora in ihrer Gesamtheit hemmend entgegentritt, findet in den oben angegebenen Zahlen eine neue

Stütze. Wenn im fernerem nach 2 Tagen bei einer Temperatur von 18° C pro cem Milch 1950 Millionen Keime anzutreffen sind, so weist das deutlich auf die Vorzüglichkeit dieses Nährsubstrates für die verschiedenen Bakterienarten hin, was natürlich die Gefahr durch eine Infektion von außen in noch bedenklicherem Lichte erscheinen läßt, als dies sonst der Fall wäre. Diese Infektion mit benutzter Streu wird speziell in einer sonst reinlich gewonnenen, bakterienarmen und dabei relativ kokkenreichen Milch zu fürchten sein; ist dagegen die Zahl der gewöhnlichen Milchsäurebildner, speziell die Menge des *Bacterium Güntheri*, in der Milch keine zu knappe, so werden in der Mehrzahl der Fälle solche Infektionen weniger schädliche Folgen zeitigen, da die kräftige Vermehrung unerwünschter Keime durch *B. Güntheri* wirksam unterdrückt werden kann.

Betrachten wir in unserem Versuche die Mikroflora von benutzter Streu und frischer Milch, so erschen wir sofort, daß in diesem Falle ungünstige Verhältnisse obwalteten. Diese Medien weisen von Anfang an mehr oder weniger große Mengen typischer Gasbildner, *Bacterium acidilactici* und *Bacterium aërogenes* auf, die sodann in allen 6 geimpften Milchproben vorherrschend auftraten und bei der deutlich makroskopisch veränderten Probe VI f das Bild der Blähung hervorriefen. Bemerkenswert ist das Verschwinden des rote Kolonien bildenden Langstäbchens der Milch und der nicht weiter verfolgten Kurzstäbchen der Milch und des Strohes, sowie der Kokken, des *Bacterium herbicola* und der *Aktinomyces*. Dies fällt deshalb auf, weil das, einen roten Farbstoff bildende Langstäbchen in der Milch mit 50 Proz. der Gesamtflora vertreten war. In den bei höherer Temperatur aufgestellten, geimpften Milchproben entwickelte sich neben *Bacterium acidilactici* das *Bacterium Güntheri* recht kräftig und erreichte in der Probe VI f die wohl absolut, nicht aber prozentual stärkste Vertretung. Die Fluoreszenten kamen in sämtlichen Milchproben vor, ohne aber dabei sich vorzudrängen.

#### Serie 8.

#### Die Einwirkung frischen Strohes auf frische Milch.

Die Impfung von 4 Erlenmeyerkölbchen, die mit je 100 cem der nämlichen wie für die vorhergehende Serie benutzten frischen Milch gefüllt worden waren, mit je  $\frac{1}{100}$  g von Strohprobe No. 17, erfolgte sofort nach dem Verbringen der Milch in das Laboratorium, d. h. eine Stunde nach der Entnahme im Stalle, am 16. Mai 1911.

Das zum Impfen der frischen Milch verwendete Stroh enthielt in  $\frac{1}{100}$  g 2 050 000 Spaltpilze, die den in 100 cem frischer Milch sich vorfindenden 238 Mill. Keimen zugefügt wurden, so daß also zu Beginn der Versuche 1 cem der geimpften Milch 2 400 500 Keime enthielt.

Nach Verlauf von 24 Stunden wurden die ersten zwei, bei 12° C und 18° C aufbewahrten Proben untersucht. Bei den anderen 2 Proben wurde mit der bakteriologischen Prüfung gewartet, bis eine deutliche makroskopische Veränderung an der Milch wahrgenommen werden konnte, was bei der bei 12° C aufgestellten Probe nach 9 Tagen und bei jener von 18° C nach 6 Tagen der Fall war.

Die Untersuchungsergebnisse waren folgende:



Bezeichnung der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VII a	12° C	24 Std.	3,4
VII b	12° C	9 Tage	18,5
VII c	18° C	24 Std.	5,3
VII d	18° C	6 Tage	18,6

Bei Probe VII a war das makroskopische Aussehen unverändert.

Probe VII b zeigte nach 9 Tagen eine von wenigen Gasblasen durchsetzte Rahmdecke, unter der das gallertig ausgeschiedene Kasein noch als zusammenhängende Masse in der hellgrauen Serumflüssigkeit herumschwamm.

Probe VII c ließ äußerlich keine Veränderungen erkennen. Die Geschmacksprobe verriet den Beginn einer Säuerung der Milch.

Probe VII d zeichnete sich durch intensive, graugelbliche Serumausscheidung aus. Die durch mehrere Gasblasen aufgetriebene Rahmdecke war dicht mit *Oidium lactis* überzogen, wodurch bei der Milch ein eigenartiger Schimmelgeruch bedingt wurde. Das Kasein war gallertig geronnen und von Gasblasen durchsetzt.

Die gefundene Menge der Keime betrug pro ccm:

Bezeichnung der Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In Mzkagar hoher Schicht	Gesamtkeimzahl
VII a	44 Mill.	54 Mill.	16 Mill.	62 Mill.
VII b	51 "	75 "	30 "	126 "
VII c	230 "	200 "	1800 "	1800 "
VII d	100 "	77 "	250 "	304 "

Die Verteilung der vorgefundenen Bakterienarten war folgende:

Bakterienart	Strohprobe No. 17 %	Frische Milch %	VII a %	VII b %	VII c %	VII d %
Aktinomyceten . . . . .	34	—	—	—	—	} 1
Kokken . . . . .	—	6	—	—	—	
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt).	15	—	—	—	—	—
<i>Bacterium herbicola aureum</i> . . . . .	14	—	—	—	—	2
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	5	5	3	—	+	—
Langstäbchen, in roten Kol. wachsend	—	50	—	—	—	—
Kurzstäbchen " " " "	—	6	—	—	—	—
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	3	13	10	60	83	66
<i>B. acidi lactici</i> . . . . .	29	13	68	40	17	31
<i>B. aërogenes</i> . . . . .	—	4	19	—	—	—
Saccharomyceten . . . . .	—	3	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100

In dieser Serie stehen die Keimmengen der bei 12° C aufgestellten Proben wieder bedeutend hinter jenen der bei 18° C aufbewahrten Proben zurück. Bei 18° C zeigt die Milchprobe nach 24 Stunden außerordentlich hohe Keimzahlen pro ccm, die nach 6 Tagen eine Reduktion auf einen Sechstel erfahren, was wohl weniger auf Nährstoffmangel, als auf die schädigende Wirkung der von den Bakterien gebildeten Stoffwechselprodukte zurückzuführen ist.

Der Artenbestand der Milchprobe VII a zeigt vorherrschend *Bacterium acidilactici*, das ursprünglich schon in der Milch anwesend,

durch den Zusatz der ebenfalls viel *Bacterium acidilactici* enthaltenden Streu, noch einen nicht unbedeutenden Zuschuß an Zellen erfahren hat. Der aus der Milch stammende Gasbildner *Bacterium aërogenes* hat es gleichfalls noch zu recht ansehnlicher Entwicklung gebracht. Wenn wir in Probe VII a das *Bacterium Güntheri* vorerst noch in bescheidener prozentualer Vertretung antreffen, so ändert sich das Bild in den 3 folgenden Proben VIIb—VII d wesentlich zu dessen Gunsten, indem es überall die Oberhand gewinnt und die Gasbildner mehr oder weniger stark zurückdrängt. Seine Tätigkeit verrät sich in den Milchproben durch das „Gallertigwerden“ derselben, wie es die Proben VIIb und VII d zeigten, während die stattgefundene Gasbildung der Wirksamkeit der *Bact. acidilactici*-Gruppe zuzuschreiben ist.

Aus dieser Versuchsserie ersehen wir, daß die spezifischen Milchsäurebakterien die spätere Veränderung der Milchproben beim Aufbewahren bestimmen und die übrigen Streu- und Milchbakterien verschwinden, oder doch stark in den Hintergrund treten. Abgesehen von der Probe VII a kann von einer deutlichen Beeinflussung der Mikroflora der Milch durch die Mikroorganismen der in der Menge von  $\frac{1}{100}$  g in 100 ccm Milch gebrachten Streu wohl kaum gesprochen werden.

#### Serie 9.

#### Die Einwirkung frischen Strohes auf sterilisierte Milch.

Am 20. Mai 1911 wurden vier sterilisierte Milchproben zu 100 ccm mit je  $\frac{1}{100}$  g Streu, also mit 2 050 000 Keimen, geimpft, zu 12° C bzw. zu 18° C gestellt und nach 24 Stunden, bzw. nach 3 und 10 Tagen (nach erfolgter makroskopischer Veränderung) untersucht und zwar mit folgendem Ergebnis:

Bezeichnung der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VIII a	12° C	24 Std.	4,3
VIII b	12° C	10 Tage	16,6
VIII c	18° C	24 Std.	4,3
VIII d	18° C	3 Tage	9,5

#### Makroskopisches Aussehen der Milchproben:

Probe VIII a: Unverändert.

Probe VIII b war käsig geronnen; der ausgeschiedene Käsestoff war vielfach zerrissen, wobei die einzelnen Stücke in dem ausgeschiedenen trüben, gelblichen Serum herumschwammen; die Rahmdecke zeigte Gasblasen. Der Geschmack war säuerlich; ein starker an Roquefortkäse erinnernder Geruch machte sich bemerkbar.

Probe VIII c: Unverändert.

Probe VIII d hatte eine dunkelgelb gefärbte Rahmdecke, die durch Gasblasen an verschiedenen Stellen emporgetrieben worden war. Darunter befand sich eine  $\frac{1}{2}$  cm breite, hellgelbe Serumzone. Das Kasein war feinflockig geronnen.

#### Keimzahlen pro ccm Milch:

Bezeichnung der Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In Mzkagar hoher Schicht	Gesamtkeimzahl
VIII a	90 000	100 000	50 000	215 000
VIII b	750 000 000	1 090 000 000	200 000 000	1 840 000 000
VIII c	8 000 000	6 400 000	8 000 000	15 400 000
VIII d	1 900 000 000	1 300 000 000	350 000 000	2 660 000 000

## Übersicht der Keimarten.

Keimart	Stroh- probe No. 17 %	VIII a %	VIII b %	VIII c %	VIII d %
Aktinomyceten . . . . .	34	6	—	—	—
Bacterium herbicola . . . . .	14	38	—	42	15
B. fluorescens . . . . .	5	5	59	—	8
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt).	15	—	3	—	—
Bacterium Güntheri . . . . .	3	23	11	46	23
B. acidilactici . . . . .	29	28	6	6	41
B. coli . . . . .	—	—	17	—	11
Kokken . . . . .	—	—	—	6	2
Schimmelpilze . . . . .	—	—	4	—	—
	100	100	100	100	100

Verfolgt man in obenstehender Tabelle die Keimarten, welche in der Milch vorkommen, so sieht man deutlich, wie die vom Stroh stammenden Bakterien in steriler Milch meistens sehr gut zu wachsen vermögen; allerdings ist dies nicht allen Arten in gleichem Maße möglich. Daß die Höhe der Temperatur und die Zeitdauer bis zur Untersuchung für die Anzahl der im ccm Milch nachweisbaren Keime die maßgebenden Faktoren sind, ist ohne weiteres aus dem Mitgeteilten ersichtlich.

Auf die Artenzusammensetzung der einzelnen Proben eingehend, ist zu konstatieren, daß bei Probe VIIIa außer den nicht weiter verfolgten Kurzstäbchen alle schon zu Anfang in der Streu vorkommenden Keimarten wieder auftraten. Es machte sich jedoch schon deutlich die elektive Wirkung der Nährflüssigkeit bemerkbar. So ist das *Bacterium Güntheri*, das in der Milch wohl optimale Lebensbedingungen antraf, sofort prozentual in die Höhe geschwollen. *Bacterium acidilactici* und *Bacterium fluorescens* sind in ihren Prozentzahlen ungefähr gleich geblieben; das *Bacterium herbicola* hat sich prozentual beinahe verdreifacht und die Aktinomyceten sind prozentual erheblich zurückgegangen; in den übrigen Proben sind die letztgenannten Mikroorganismen ganz verschwunden.

Wie Probe VIIIb zeigt, ist die niedere Temperatur von 12° C dem *Bacterium fluorescens* sehr förderlich, eine Tatsache, die wir später noch öfters konstatiert haben. Da es mehr als die Hälfte aller Keime ausmachte, so ist wohl die intensive, gelbliche Serumausscheidung dieser Probe auf seine Wirksamkeit zurückzuführen; daneben vermochte das *Bacterium Güntheri* nicht aufzukommen. Als neu hervortretende Arten, die durch die Versetzung in die zur Verfügung gestellte Nährflüssigkeit (sterile Milch), offenbar aus dem sehr wenig zahlreichen Vorkommen im frischen Stroh stark begünstigt und zu kräftiger Vermehrung angeregt worden waren, sind das *Bacterium coli* und die Schimmelpilze (*Penicillium glaucum*) zu nennen; ersteres die Gasbildung und letztere den an Roquefortkäse erinnernden Geruch der Milch hervorrufend.

In Probe VIIIc sind neben den beiden, das Feld beherrschenden Spaltpilzen *Bacterium Güntheri* und *Bacterium herbicola*, der Gasbildner *Bacterium acidilactici* und die neu auftretenden Kokken von verschwindender Bedeutung.

Interessant ist das Bild, das uns die Probe VIII d bietet: *Bacterium Güntheri*, vereint mit dem *Bacterium acidilactici* und dem *Bacterium coli*, die alle drei prozentual relativ stark hervortraten, bewirkten die feinflockige Gerinnung der Milch. Ausstrichpräparat und Plattenkultur des Rahmes bestätigten die Annahme, daß dessen dunkelgelbe Färbung von einer starken Ausbreitung des *Bacterium herbicola* herrührte. Im Gegensatz zur Probe VIII b ist, zufolge der höheren Temperatur, das Wachstum der „Fluoreszenten“ zurückgeblieben.

Kurze Zusammenfassung der wichtigsten Untersuchungsergebnisse des Abschnittes:

c) Einwirkung von frischem und benutztem Stroh auf frische und sterilisierte Milch.

Unter Hinweis auf die bei den einzelnen Versuchen gemachten Besprechungen seien die wichtigsten Untersuchungsergebnisse in Form von 5 Punkten hervorgehoben:

1. Frisches Stroh, in der angewendeten Menge von  $\frac{1}{10}$  bzw.  $\frac{1}{100}$  g in frische Milch verbracht, vermag auf die mikrobiologischen Umsetzungen in dieser Nährflüssigkeit keinen bestimmenden Einfluß auszuüben. Bei einer Aufbewahrungstemperatur von 18° C entwickeln sich in der geimpften Milch *Bact. Güntheri* L. et N. und die gasbildenden Milchsäurebakterien vom Typus des *Bact. acidilactici* Hueppe. Bei 12° C vermögen neben den genannten Spaltpilzen unter Umständen die fluoreszierenden Bakterienarten eine wichtige Rolle zu spielen.

2. Wird frisches Stroh in der angegebenen Quantität in durch Wärme sterilisierte Milch gebracht, so entwickelt sich bei 18° C neben dem *Bact. Güntheri* L. et N. und den gasproduzierenden Milchsäurebakterien auch das auf grüner pflanzlicher Substanz heimische *Bact. herbicola aureum* Burri et Duggeli. Wird die Aufbewahrungstemperatur der Milch bei 12° C gewählt, so entwickeln sich in den ersten 24 Stunden zahlreiche, mit dem Stroh in die Milch gelangende Spaltpilze, während mit fortschreitender Gärzeit das *Bact. fluorescens* (Flügge) L. et N. die führende Rolle übernimmt, begleitet von gasbildenden Milchsäurebakterien und *Bact. Güntheri* L. et N.

3. Wenn wir, durch Vermengung von 95 g Exkrement-Emulsion (Kuhkot und Harn) mit 5 g Stroh gewonnenes, sogenanntes benutztes Stroh, in der Menge von  $\frac{1}{10}$  g in 100 cem frische Milch bringen, so kann, aber es muß nicht, eine Beeinflussung der Umsetzungsvorgänge in der Nährflüssigkeit stattfinden. Diese Infektion mit benutztem Stroh wird speziell in einer reinlich gewonnenen, bakterienarmen Milch zu fürchten sein; ist dagegen die Zahl der gewöhnlichen Milchsäurebakterien (*Bact. Güntheri*) in der Milch keine gar zu bescheidene, so werden in der Mehrzahl der Fälle solche Infektionen weniger schädliche Folgen zu zeitigen vermögen, da die kräftige Vermehrung unerwünschter Keime durch *B. Güntheri* wirksam unterdrückt werden kann. In der mit benutztem Stroh geimpften Milch entwickeln sich sowohl bei 12 als bei 18° C die gasbildenden Milchsäurebakterien dominierend.

4. Beim Einimpfen von benutztem Stroh in sterilisierte Milch entwickelten sich bei 12° C nach 48 Stunden in einem Falle *Bact. herbicola aureum* Burri et Duggeli, *Bact. Güntheri* L. et N. und Aktinomyceeten

als herrschende Arten, während bei einem 2. Versuche *Bact. acidilactici* Hueppe, Kokken und *Bac. putrificus* Bienstock die Mikroflora zusammensetzten. Bei einer Aufbewahrungstemperatur von 18° C war nach 48 Stunden in einem Versuche das *Bact. Güntheri* L. et N., im anderen dagegen der Typus der gasbildenden Milchsäurebakterien, vertreten durch das *Bact. acidilactici* Hueppe, dominierend.

5. Bei der Aufbewahrung von benutztem Stroh bei 18° C während 12, 24 und 48 Stunden ergibt sich in der ersten Zeit zunächst eine bedeutende Verminderung der Mikroorganismenzahl, die aber bald einem raschen Ansteigen der Keimmenge Platz macht. In der Mikroflora der gestandenen benutzten Streu sind die gasbildenden Milchsäurebakterien (*Bact. coli* Escherich L. et N., *Bact. aërogenes* (Escherich) L. et N. und *Bact. acidilactici* Hueppe) vorherrschend.

## 2. Untersuchungen an Schwarzstreu.

### A. Einleitung und bisherige Forschungsergebnisse.

Unter Schwarzstreu verstehen wir solche Einstreumaterialien, die von Wiesen, die ausschließlich der Streuproduktion dienen, geerntet werden. Ihre floristische Zusammensetzung kann eine sehr verschiedene sein, da Sauer- und Süßgräser, letztere meist spärlicher, in Mischung daran beteiligt sind. Verdorbenes, als Futter nicht verwendbares Heu, ferner sogenanntes Sauerheu, auch Farnstreu, werden zur Schwarzstreu gerechnet. Diejenige Streu, die aus eigentlichem Sumpflande stammt, haben wir als „Riedstreu“ bezeichnet.

Schwarzstreu gilt als das beste Strohersatzmittel. Da sie im Preise bescheidener ist als das Getreidestroh und außerdem noch einen höheren Düngewert besitzt, wie aus den Untersuchungen von Grete<sup>1)</sup> (76) hervorgeht, so hat die Verwendung von Schwarzstreu heute weite Verbreitung gefunden.

Schon früh haben sowohl Botaniker als Chemiker der Schwarzstreu ihre Aufmerksamkeit zuteil werden lassen; stehen uns doch in den Publikationen der Schweizerischen Versuchs- und Untersuchungsanstalt in Zürich, sowie in Einzelschriften von Stebler (76 und 77) vortreffliche Abhandlungen über diese Materie zur Verfügung. Systematische bakteriologische Untersuchungen, die sich speziell mit Schwarzstreu befassen, sind uns aus der Literatur nicht bekannt geworden. Grüne Pflanzen, sowie Heu bildeten im allgemeinen den Gegenstand der Untersuchungen, die wir einleitend beim Kapitel Stroh näher besprochen haben, weshalb wir an dieser Stelle auf das dort Gesagte verweisen.

Unseren Schwarzstreu-Untersuchungen haben wir nachträglich anhangsweise noch vier bakteriologische Prüfungen von „Riedstreu“ beigefügt.

### B. Die Untersuchung einzelner Schwarzstreuproben.

#### Schwarzstreuprobe No. 1.

Die Probe wurde einem Stocke Schwarzstreu, der bis zu einem gewissen Grade die Selbsterhitzung durchgemacht hatte, im Speicher der alten Spitalscheune in Zürich 6 entnommen. Die gut ausgetrocknete Streu bestand vorwiegend aus verschiedenen *Carex*arten, vermengt mit wenig trockenen Laubblättern und Moos, und verbreitete einen feinen, aromatischen Heuduft. Der Gang der Untersuchung war der gleiche wie bei den Strohproben.

<sup>1)</sup> Grete, zitiert nach Stebler.

Nach gründlichem Zerkleinern des Materials vermittelt sterilisierter Schere wurden 4 g Streu mit 400 ccm keimfreien Wassers in sterilisiertem Tiegel tüchtig zerrieben, dann durch Überimpfung in mit sterilem Wasser gefüllte Erlenmeyerkölbchen weitere dezimal gehaltene Verdünnungen hergestellt und damit die Nährböden geimpft. Zur Anwendung kamen gewöhnliche Gelatineplatten, gewöhnliche Agarplatten und Milchzuckeragar hohe Schicht-Kulturen, deren Untersuchung am 6. Januar 1910 folgende Resultate zeitigte:

Die Zahl der Keime betrug pro g Einstreumaterial:

Auf Gelatineplatten . . . . .	35 000
„ Agarplatten . . . . .	100 000
In Milchzuckeragar hohe Schicht . . .	50 000

Von den als Gesamtzahl gefundenen 150 200 Keimen pro g entfielen auf:

<i>Bacterium herbicola aureum</i> .	99 600 = 66 %
<i>B. coli</i> . . . . .	45 000 = 30 %
<i>Bacillus subtilis</i> . . . . .	5 600 = 4 %
	<hr/> 150 200 = 100 %.

Das auf grüner, pflanzlicher Substanz häufig vorkommende *Bacterium herbicola* machte  $\frac{2}{3}$  der Gesamtflora aus. Während wir dem *Bacillus subtilis* schon wegen seines geringen prozentualen Vorkommens nur untergeordnete Bedeutung zusprechen, steht das Verhältnis beim *Bacterium coli* wesentlich anders.

Sein starkes Auftreten glauben wir mit der stattgehabten intensiven Erwärmung des Streustockes auf ca. 40° C in Zusammenhang bringen zu sollen, da diese Temperatur dem Wachstum dieser Mikrobe sehr förderlich ist. Eine Verunreinigung der Streu mit Kuhkot, welcher letzterer ja häufig *B. coli* beherbergt, hätte eventuell eine Erklärung für sein Vorkommen geben können, doch fällt dies kaum in Betracht, da eine sorgfältige Prüfung des Materials nicht die geringsten Verdachtsmomente, die für eine solche Annahme sprechen würden, erkennen ließ.

Da *Bact. coli* sowohl als starker Gasbildner, wie auch als Erreger von bitterem Geschmack, den Molkereiprodukten sehr gefährlich werden kann, so ist bei Verwendung solcher Streu jedenfalls möglichste Vorsicht geboten, um eine Verunreinigung der Milch durch diese Bakterienart zu vermeiden.

#### Schwarzstreuprobe No. 2.

Sie wurde in einer Scheune bei Meilen, Kt. Zürich, von trockener Lagerstelle entnommen. Die im Spätherbst geerntete, vorwiegend aus *Carex*-arten nebst einigen Süßgräsern zusammengesetzte Streu war gut getrocknet. Die Aufbewahrung erfolgte in sterilisiertem, geschlossenem Papiersacke an einem staubfreien Orte im Laboratorium. Ein Monat nach der Probeentnahme wurde die Untersuchung durchgeführt. Datum 24. Januar 1910.

Das Resultat der Keimzahlbestimmung war pro g Schwarzstreu:

Gelatineplatten . . . . .	10 000 000 Bakterien
Agarplatten . . . . .	30 000 000 „
Milchzuckeragar hohe Schicht .	2 000 000 „

Die Agarplatten repräsentierten zugleich die Gesamtkeimzahl von 30 Mill. Bakterien pro Gramm Streu, die sich unter die einzelnen Arten wie folgt verteilte:



<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	10 Mill. =	33 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	8 „ =	27 %
<i>B. herbicola</i> . . . . .	8 „ =	27 %
<i>Bacillus subtilis</i> . . . . .	2 „ =	7 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	1 „ =	3 %
Kurzstäbchen (nicht näher verfolgt) . . . . .	1 „ =	3 %
		<hr/>
		30 Mill. = 100 %.

Die Anwesenheit einer größeren Menge von *Bact. acidilactici* stellte dieser Probe kein sonderlich gutes Zeugnis aus. Zudem wies sie eine relativ hohe Keimzahl auf. Diese beiden Momente berücksichtigend, entschlossen wir uns, später damit einen kombinierten Versuch in einzelnen Serien, wie dies im vorigen Kapitel mit Stroh geschehen war, durchzuführen.

Daß *Bact. fluorescens* und *Bact. herbicola* in reichlichem Maße auftreten, kann uns bei der floristischen Zusammensetzung der Streu nicht verwundern. Auch der „Heubazillus“, *Bacillus subtilis*, ist in diesem Material nichts Außergewöhnliches. Das *Bact. coli* wuchs auf den Gelatineplatten in typischen, zarten, bläulich schimmernden Kolonien; auch das mikroskopische Bild stimmte zur Art; in der Gasbildung dagegen ist es zufolge nur schwacher Mehrproduktion von  $H_2$  gegenüber  $CO_2$  in die Verwandtschaft des *Bact. acidilactici* Hueppe zu stellen. Die uns unbekannten Kurzstäbchen haben wir nicht weiter verfolgt.

### Schwarzstreuprobe No. 3.

Sie stammte vom Gutsbetriebe der landwirtschaftlichen Schule Strickhof bei Zürich. Diese Probe bestand weit vorwiegend aus Gramineen, unter denen *Molinia coerulea* dominierte, während *Nardus stricta* an zweiter Stelle sich fand.

Die am 5. März 1910 erfolgte Untersuchung ergab pro g in:

#### Quantitativer Hinsicht:

Auf Gelatineplatten . . . . .	4 000 000 Keime
„ Agarplatten . . . . .	16 000 000 „
In Milchwuckeragar hoher Schicht . . . . .	1 400 000 „
und eine Gesamtkeimzahl von . . . . .	18 100 000.

#### Qualitativer Hinsicht:

Aktinomyceten . . . . .	12 500 000 =	69 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	3 000 000 =	16 %
Gelber Gasbildner Holliger . . . . .	1 400 000 =	8 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	1 200 000 =	7 %
		<hr/>
		18 100 000 = 100 %.

Die Aktinomyceten kamen auf den Agarplatten beinahe als Reinkultur vor. Sie gehörten ausschließlich der Spezies *Actinomyces chromogenes* Gasperini  $\beta$  albus L. et N. an, die bei uns recht häufig auftritt und sich durch sehr langsame Koloniebildung auszeichnete, daher bei Untersuchungen leicht übersehen werden kann. Eine Verfärbung des Nährbodens, wie dies bei verschiedenen anderen Aktinomyceten eintritt, haben wir selbst nach 3 Wochen nicht konstatieren können. Da nach den Angaben von Gasperini diese Form auch Rinderaktinomykose erregen kann, wäre einer solchen Streu, wie der vorliegenden, eine gewisse Gefährlichkeit für die Stalltiere nicht abzusprechen. Unserer Auffassung nach dürfte die unseren Kühen diesbezüglich drohende Gefahr keine allzu große sein, denn, trotzdem wir

in unseren Streuuntersuchungen oft großen Mengen von Bedenken erregenden Aktinomyeten begegnet sind, stehen die spärlichen Fälle, in welchen in hiesiger Gegend Rinderaktinomykose aufgetreten ist, in keiner Weise in Einklang mit der Häufigkeit des Vorkommens der besagten pathogenen Art. Zudem erfolgte nachgewiesenermaßen in den uns bekannt gewordenen Fällen die Infektion nicht durch Streu, sondern durch Futtermittel.

*Bact. Güntheri* und *Bact. fluorescens* kennen wir schon von früher her als häufige Bewohner von Streumaterialien, während der Gelbe Gasbildner Holliger uns hier zum ersten Male auf Schwarzstreu entgegentritt.

#### Schwarzstreuprobe No. 4.

Anlässlich einer Exkursion nach dem Kt. Thurgau wurde die Probe aus dem Stalle von H. K. in Niederhelfenswil entnommen, in einem für diese Zwecke extra keimfrei präparierten Papiersack verpackt und nach 2 Tagen, am 20. April 1910, im Laboratorium untersucht.

Die Probe bestand vorwiegend aus *Molinia coerulea*, gemischt mit *Nardus stricta*.

Es wurden gefunden auf den

Gelatineplatten . . . . .	31 000 000	Keime pro g Streu
Agarplatten . . . . .	44 000 000	" " " "
In der Milchzuckeragar hohen Schicht . .	1 500 000	" " " "

Die Gesamtkeimzahl betrug 50 500 000 Keime pro g und verteilte sich auf folgende Arten:

<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	= 40 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	= 30 %
Gelber Säurebildner . . . . .	= 10 %
Schimmelpilze . . . . .	= 4 %
<i>Bacterium putidum</i> . . . . .	= 4 %
<i>B. punctatum</i> . . . . .	= 4 %
<i>B. coli</i> . . . . .	= 2 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	= 2 %
Kokken . . . . .	= 2 %
Stäbchen mit orangerot gefärbten Kolonien	= 2 %
	100 %.

Die hohe Keimzahl von 50½ Mill. pro Gramm, sowie der Reichtum an verschiedenen Arten, der 42 Proz. Gasbildner (40 Proz. *Bact. acidilactici* und 2 Proz. *Bact. coli*) nebst 34 Proz. Fluorescenten (30 Proz. *Bact. fluorescens* und 4 Proz. *Bact. putidum*) umfaßt, die durch Gasproduktion, sowie durch Erzeugung von bitterem Geschmack und durch Peptonisierungsvermögen unseren Molkereiprodukten verderblich werden können, lassen vom bakteriologischen Standpunkte aus diese Streu als eine minderwertige beurteilen. Der Gelbe Säurebildner war in seinem Säuerungsvermögen, Milchzucker gegenüber, nur noch schwach tätig.

Die Kokken, *Bac. mesentericus* und die auf den Agarplatten in orangeroten Kolonien wachsenden, nicht weiter verfolgten Stäbchen, betrachten wir als Verunreinigungen mehr zufälliger Natur, wahrscheinlich aus der Luft stammend; ihnen möchten wir die vorher besprochenen Mikroorganismen als eigentlich die Streu bewohnende Arten gegenüberstellen.

#### Schwarzstreuprobe No. 5.

Während der Frühjahrsferien im April 1910 wurde von mir eine größere Reise durch die Schweiz unternommen, um an den verschiedenen

Orten unseres Landes persönlich Proben diverser Streumaterialien zu entnehmen. Bei dieser Gelegenheit führte mein Weg durch Sarnen, Kanton Unterwalden, wo mir ein auf freiem Felde befindlicher Schober von Schwarzstreu das Material für Probe 5 lieferte.

Die Streu wurde der Randpartie des Stockes entnommen, zeigte etwas Schimmelbildung und war stark mit lehmigen und sandigen Erdpartikeln verunreinigt. Die einheimischen Bauern nannten sie „Schmalenstreu“, was besagen sollte, daß ihr Hauptbestandteil Besenried (*Molinia coerulea*) war.

Datum der Untersuchung: 24. April 1910.

Keimzahlen:

Auf Gelatineplatten . . . . .	12 Mill. Keime pro g Streu
„ Agarplatten . . . . .	35 „ „ „ „
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . . . . .	1 „ „ „ „

Von der Gesamtzahl von 35 Mill. Keimen pro g entfielen auf:

<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	12 Mill. = 34 %
Schimmelpilze . . . . .	8 „ = 23 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	8 „ = 23 %
<i>B. coli</i> . . . . .	4 „ = 11 %
Gelber Säurebildner Levy . . . . .	2 „ = 6 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	1 „ = 3 %

35 Mill. = 100 %.

Der Einfluß der erdigen Verunreinigungen macht sich diesmal im Auftreten des typischen Erdbewohners, *Bacillus mesentericus*, stark bemerkbar, indessen wohl der etwas hohe Feuchtigkeitsgehalt dieser Streu den Schimmelpilzen und dem *Bacterium fluorescens* gute Wachstumsbedingungen bot. Daß *Bacterium coli* und auch *Bacterium acidilactici* auf allen Pflanzen gelegentlich vorkommen können, zeigt wiederum dieses Beispiel; ebenso ist der Gelbe Säurebildner, speziell auf Schwarzstreu, kein seltener Gast.

#### Schwarzstreuprobe No. 6.

Sie wurde am 26. April 1910 einem auf freiem Felde gelagerten Streustocke bei Erlenbach im Simmental (707 m), Kanton Bern, entnommen. In ihrer floristischen Zusammensetzung stimmte sie so ziemlich mit der vorigen Probe überein. Die Untersuchung erfolgte 3 Wochen nach der Probenentnahme und zeitigte folgende Resultate:

Keimzahlen:

Auf Gelatineplatten . . . . .	150 Mill. pro g
„ Agarplatten . . . . .	550 „ „ „
In Milchzuckeragar hoher Schicht . . . . .	16 „ „ „

Die berechnete Gesamtkeimzahl belief sich auf 570 Mill. pro g mit folgender Artbesetzung:

Aktinomyceten . . . . .	250 Mill. = 44 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	150 „ = 26 %
Gelber Säurebildner Levy . . . . .	80 „ = 14 %
Schimmelpilze . . . . .	70 „ = 12 %
<i>Bacterium punctatum</i> . . . . .	20 „ = 4 %

570 Mill. = 100 %.

Die kurze Lagerzeit dieser Probe bei einem relativ hohen Feuchtigkeitsgehalt gibt uns die Erklärung für die hohe Keimzahl. Es ist einleuchtend

daß Proben resp. Streustöcke, die längere Zeit an geschütztem Orte lagerten, wesentliche Wasserverluste erleiden, wodurch ein für das Bakterienwachstum unentbehrlicher Faktor, das Wasser, Einschränkungen erfährt, die sich dann in einem Zurückgehen der hohen Keimzahlen und einem Verschwinden weniger widerstandsfähigerer Arten bemerkbar macht. Leider hatten wir keine Zeit gefunden, einmal diese Umwandlungsprozesse in den Keimzahlen und Keimarten, hervorgerufen durch die Länge der Aufbewahrungszeit eines Streumaterials, an einer einzelnen Probe zu studieren.

Dem ziemlich hohen Feuchtigkeitsgehalt dieser Probe dürfte wohl das starke Vorkommen der Aktinomycceten und die Anwesenheit der Schimmelpilze (*Penicillium* und *Mucor*) zuzuschreiben sein. Daß das *Bac-terium fluorescens* sich dabei ebenfalls recht wohl fühlte, fand seinen Ausdruck in der außerordentlich intensiven Farbstoffproduktion dieser Art. Es ist uns überhaupt bei verschiedenen Schwarzstreuproben aufgefallen, wie die daraus isolierten Fluorescenten die Nährböden stark grün färben und dabei beim Weiterzüchten diese Eigenschaft noch längere Zeit unverändert beibehalten. Beim Gelben Säurebildner war die Säureproduktion in der hohen Schicht auf ein Minimum gesunken; das übrige physiologische Verhalten entsprach jedoch der Norm.

#### Schwarzstreuprobe No. 7.

**Herkunft:** Landwirtschaftliche Schule Plantahof in Landquart, Kt. Graubünden.

**Aussehen:** Leicht verschimmeltes, aus Süßgräsern und Kleearten bestehendes Emd, vermischt mit Sauergräsern.

Diese Streu hatte schon einmal Verwendung gefunden, war dann durch Ausbreiten auf Wiesenboden vom Regen ausgewaschen und nachher wieder getrocknet worden. In diesem Zustande wurde sie uns am 20. Januar 1911 übersandt und 8 Tage später untersucht.

**Anzahl der Keime pro g auf:**

Gelatineplatten . . . . .	1 200 000
Agarplatten . . . . .	4 200 000
In Milchzuckeragar hoher Schicht . .	2 500 000.

Im Gesamten fanden wir pro g 7 100 000 Keime, die folgenden Arten angehörten:

Aktinomycceten . . . . .	2 700 000 = 38 %
<i>Bacillus putrificus</i> . . . . .	2 500 000 = 35 %
<i>B. megatherium</i> . . . . .	1 200 000 = 17 %
Schimmelpilze . . . . .	700 000 = 10 %
	<hr/> 7 100 000 = 100 %.

Die Zusammensetzung der Mikroflora läßt uns hier deutlich den Einfluß der vorausgegangenen Benutzung dieser Streu, d. h. die zeitweilige Verunreinigung durch Stalldünger, wie auch den Kontakt mit der Mikroflora des Bodens beim Ausbreiten auf dem Wiesenlande vermuten.

Können die Aktinomycceten auch bei ganz frischer Streu in dem Maße (38 Proz.) auftreten, so ist dies bei dem anaëroben, typischen Fäulniserreger *Bacillus putrificus* weniger wahrscheinlich. Sicherlich liegt hier ein Fall der Verschleppung dieser Bakterienart vom Dünger auf die Streu vor, die selbst durch das nachherige Auswaschen nicht mehr rückgängig gemacht werden konnte. Für die 17 Proz. *Bacillus megatherium*, dieser ausgesprochenen Bodenbakterienart, möchten wir, wie schon angedeutet, den Auswaschungs- und Trocknungsprozeß der Streu auf dem Wiesenlande und die dabei stattgefundene Kontaktinfektion als Ursache ansehen.

Die fast überall in der Luft, wie auch im Dünger anzutreffenden Sporen von Schimmelpilzen haben auf unserm Untersuchungsmaterial gleichfalls günstigen Nährboden getroffen.

### Schwarzstreuprobe No. 8.

Sie war eine unter dem Namen „Besenried-Streu“ bekannte Mischung von *Molinia coerulea*, als vorherrschendem Bestandteil, *Nardus stricta*, *Eriophorum angustifolium*, nebst einigen anderen Sauergräsern, die wir durch die Freundlichkeit eines Landwirtes H. in Affeltrangen, Kanton Thurgau, zugesandt erhielten.

Datum der Untersuchung: 27. Januar 1911.

Die Keimzahlen betragen auf den

Gelatineplatten . . . . .	11 000 000	Keime pro g
Agarplatten . . . . .	12 000 000	„ „ „
In der Milchzuckeragar hohen Schicht	400 000	„ „ „

An der Gesamtkeimzahl von 14 400 000 Bakterien pro g waren folgende Arten beteiligt:

<i>Bacterium herbicola aureum</i>	8 000 000 =	56 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	4 000 000 =	28 %
<i>B. coli</i> . . . . .	1 000 000 =	7 %
<i>B. punctatum</i> . . . . .	1 000 000 =	7 %
<i>Bacillus putrificus</i> . . . . .	400 000 =	2 %
	14 400 000 =	100 %.

Über die Hälfte der Keime gehört zu *Bacterium herbicola aureum*, während als zweiter Hauptbestandteil der Mikroflora die Fluoreszenten, vertreten durch das *Bacterium fluorescens*, in Betracht kommen. Können wir somit den größeren Teil der in dieser Streu nachweisbaren Bakterien als solche harmloser Natur bezeichnen, so sind die beiden andern, wenn auch nur in geringer Menge vorhandenen Spaltpilzarten, nämlich das *Bacterium coli* seiner gasbildenden und der *Bacillus putrificus* seiner fäulnisregenden Eigenschaften wegen, unliebsame Begleiter; beide vermögen, in Milch versetzt, darin abnormale, die milchwirtschaftlichen Betriebe schädigende Umsetzungen hervorzurufen.

### Schwarzstreuproben No. 9 und No. 10.

Der Bezugsort beider Proben war ein Gutsbetrieb bei Cham, Kanton Zug.

Probe No. 9 stellte ein Gemisch von *Molinia coerulea*, *Nardus stricta*, Kleearten und einzelnen Moosen dar, während Probe No. 10 als einzigen Bestandteil das Besenried (*Molinia coerulea*) aufwies.

Die Untersuchung der Proben wurde gleichzeitig am 28. Januar 1911 in Angriff genommen und dabei folgende Resultate erzielt:

Keimzahlen pro g:

	No. 9	No. 10
Auf Gelatineplatten . . . . .	11 600 000	3 000 000
„ Agarplatten . . . . .	27 000 000	44 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten.	400 000	37 000 000
Gesamtkeimzahl. . . . .	32 000 000	61 000 000

Zweite Abt. Bd. 47.

4

## Keimarten:

	No. 9	No. 10
<i>Bacterium herbicola aureum</i> . . .	30 %	28 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	21 %	5 %
Kurzstäbchen, in grauen Kolonien wachsend . .	21 %	—
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	6 %	49 %
<i>Bacillus subtilis</i> . . . . .	8 %	—
<i>B. putrificus</i> . . . . .	—	11 %
Kokken . . . . .	9 %	—
Schimmelpilze . . . . .	5 %	7 %
	100 %	100 %

Obwohl Probe 9 an Artenzahl der andern Streu überlegen ist, dürfen wir sie, bakteriologisch beurteilt, dennoch als die bessere der beiden Qualitäten ansehen, da die darin vorkommenden Typen, wie *Bacterium herbicola*, *Bacterium fluorescens*, ein in grauen Kolonien wachsendes, nicht weiter verfolgtes Kurzstäbchen, das uns bei der Weiterzucht rasch eingegangen ist, und die nur in wenigen Prozents vorkommenden *Bacillus subtilis*, *Bacterium acidilactici*, die Kokken und Schimmelpilze nicht die Bedeutung besitzen, wie das in Probe No. 10 die Hälfte aller Keime ausmachende *Bacterium acidilactici*. Dieser Gasbildner kommt im g Schwarzstreu No. 10 in der stattlichen Menge von 29 890 000 Keimen vor, und umfaßt damit allein beinahe soviel Keime, wie das Total der Probe No. 9. *Bacterium acidilactici* und *Bacillus putrificus* sind 2 Arten, deren zahlreicheres Vorkommen auf Streu, wie schon früher betont wurde, immer zu Bedenken Veranlassung gibt.

## Schwarzstreuproben No. 11 und No. 12.

Sie wurden uns von einem Landwirt aus dem Kanton Zug übermittelt, mit dem Bemerkten, daß Probe 11 eine im Herbst 1910 geerntete Streu sei, während No. 12 von einem über 2 Jahre alten Streustocke stamme. Wenn auch im Alter verschieden, war im Aussehen beider Proben kein Unterschied zu konstatieren, beide waren reine, sogenannte Besenried-Streu, die nur aus *Molinia coerulea* bestanden.

Die Untersuchung beider Proben erfolgte gleichzeitig am 1. Februar 1911.

Die Zahl der Keime betrug pro g:

	No. 11	No. 12
Auf Gelatineplatten . . . . .	7 700 000	330 000
„ Agarplatten . . . . .	7 700 000	800 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten	1 000 000	3 200 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	8 700 000	4 000 000

Die Zusammensetzung der Arten war folgende:

	No. 11	No. 12
Kokken . . . . .	4 %	37 %
<i>Bacterium herbicola aureum</i> . .	40 %	8 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	16 %	—
Gelber Säurebildner Levy . . . . .	15 %	—
<i>Bacillus putrificus</i> . . . . .	8 %	42 %
Aktinomyceten . . . . .	—	10 %
Schimmelpilze . . . . .	17 %	3 %
	100 %	100 %

Was die Keimmenge anbelangt, so sehen wir, daß die Streu jüngern Datums gegenüber der andern pro g mehr als das Doppelte an Mikroben enthält.

Ein längeres, trockenes Lagern einer Streu ist wohl immer mit einem Wasserverluste derselben verbunden, was häufig gleichzeitig eine Verminderung der Bakterienmenge nach sich zieht; darunter leiden wohl in erster Linie die Nichtsporenbildner.

Die einzelnen, auf Probe 11 gefundenen Arten entsprechen so ziemlich den Befunden, wie wir sie schon öfters bei der Untersuchung getrockneter Pflanzenteile erhalten haben. *Bacterium herbicola*, *Bacterium fluorescens* und der Gelbe Säurebildner stellen das Hauptkontingent, nebst einer beträchtlichen Menge von Schimmelpilzen, während Kokken und *Bacillus putrificus* in der Menge zurücktreten.

Die auf Probe 12 gefundenen Fäulnisbakterien (*Bac. putrificus*) erwiesen sich in ihrem Eiweißzersetzungsvermögen als sehr aktiv, indem sämtliche Verdünnungen der hohen Schicht einen durch Gasbildung zerrissenen Nährboden zeigten, wobei gleichzeitig stark stinkende Gerüche wahrzunehmen waren. Auf dem gleichen Nährboden fanden wir massenhaft Kokken, die sich öfters durch Bildung längerer Ketten dem Streptokokken-Typus näherten. Die beträchtliche Menge von *Bac. putrificus* und von Kokken ist auffallend. Ob diese 2 Gruppen, schon von Anfang an auf der Streu anwesend, erst nachträglich quantitativ diese Wachstumsförderung erfahren haben, oder einer eventuellen Verunreinigung durch Dünger ihr Dasein verdanken, können wir nicht entscheiden. Jedenfalls ist bei Verwendung einer Streu von derartiger bakteriologischer Zusammensetzung wie No. 12, in einem milchwirtschaftlichen Betriebe, Vorsicht geboten, da Fäulnisbakterien in der Nähe von Milch und Molkereiprodukten keine gern gesehenen Gäste sind.

#### Schwarzstreuproben No. 13 und No. 14.

**Herkunft:** Gutsbetrieb bei Tänikon, Kt. Thurgau.

Probe 13 kann man nicht als eigentliche Schwarzstreu ansprechen, da einer kleineren Zahl von Sauergräsern hauptsächlich Spelzen von Spelz und Weizen, Ährenstücke, zerrissene Strohhalme, d. h. die Abfälle einer Getreideputzmaschine beigemengt waren.

Probe 14 war ganz grauschwarz und bestand aus einer Unmenge zerrissener, teils schon in Zersetzung begriffener Pflanzenteile von Süß-Gräsern, sowie aus Stengeln, Blättern, Blatt- und Stengelteilen verschiedener Sauergräser, deren Artzugehörigkeit nur unsicher bestimmt werden konnte.

**Untersuchungsdatum:** Probe No. 13 am 3. Februar 1911

„ No. 14 „ 7. Februar 1911

**Keimzahlen:** Bei Probe 13 wurde die Ermittlung der Anzahl Keime auf den Gelatineplatten infolge ihrer vollständigen Verflüssigung durch *Bact. fluorescens* verunmöglicht. Da in der Milchzuckeragar hohen Schicht nirgends Wachstum vorhanden war, hatten wir als einzigen Anhaltspunkt die Agarplatten mit einer Keimmenge von 200 Mill. pro Gramm Schwarzstreu.

**Keimarten:** Es entfielen auf

<i>Bacterium herbicola</i> . . . . .	135 Mill. =	68 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	55 „ =	27 %
Aktinomyeten . . . . .	10 „ =	5 %
	200 Mill. =	100 %.

Das *Bact. herbicola* war in den 2 Unterarten, *Bact. herbicola rubrum* und *B. herbicola aureum*, im Verhältnis von 5:8,5 vertreten; alle Kolonien waren durch intensive Farbstoff- und ausgeprägte

4\*



Zoogloenbildung ausgezeichnet. *Bact. fluorescens* dokumentierte sein Wohlbefinden durch kräftige Peptonisierung auf Gelatineplatten, während die Aktinomycceten keine Besonderheiten aufwiesen.

Der mikroskopische Befund dieser Probe läßt den Einfluß der Strohbestandteile deutlich erkennen, sind wir doch früher, bei den Strohuntersuchungen, auf eine ähnlich zusammengesetzte Flora gestoßen. Da die eruierten Arten in Milch kaum energische Umsetzungen vollziehen, so wollen wir die Untersuchungsergebnisse nicht weiter diskutieren.

#### Probe No. 14.

Keimzahlen pro g:

Auf Gelatineplatten . . . . .	260 Mill.
„ Agarplatten . . . . .	390 „
In den Milchzuckeragar hohen Schichten	1 „

Die Gesamtkeimzahl betrug 460 Mill. Keime pro Gramm mit folgender Artzusammensetzung:

<i>Bacillus subtilis</i> . . . . .	150 Mill. =	33 %
Aktinomycceten . . . . .	70 „ =	15 %
Kokken . . . . .	50 „ =	11 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	50 „ =	11 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	50 „ =	11 %
Schimmelpilze . . . . .	30 „ =	6 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	30 „ =	6 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	20 „ =	5 %
<i>Bacillus putrificus</i> . . . . .	10 „ =	2 %
<hr/>		
	460 Mill. =	100 %.

Neben einer außerordentlich hohen Keimmenge pro Gramm ist zugleich die Zahl der Arten eine große. Vom molkereitechnischen Standpunkte unerwünscht ist die große Zahl von Sporenbildnern: *Bac. subtilis* und *Bac. mesentericus*. Besonders gefährlich ist die Einwanderung in solche Milch, die zum Pasteurisieren verwendet werden soll, da durch nachträgliches Auswachsen der die Pasteurisation überdauernden Sporen, die Milch, infolge Tätigkeit der vegetativen Formen, vollständiger Zersetzung anheim fallen kann.

Daß die Gasbildner *Bact. acidilactici* und *Bact. coli* ebenfalls schädigend auftreten können, haben wir schon öfters erwähnt.

Die hohe Keimzahl einerseits und das Gemisch von unerwünschten Arten andererseits lassen diese Streuprobe in recht ungünstigem Lichte erscheinen.

#### Schwarzstreuprobe No. 15.

Wir haben sie persönlich am 14. November 1913 einem 3 Jahre alten Streustock eines Bauerngutes in der Nähe von Erlenbach, Kt. Zürich, entnommen. Sie bestand in der Hauptsache aus sogenanntem „Besenried“ (*Molinia coerulea*). Die 2 Tage nach der Probeentnahme vorgenommene Untersuchung ergab folgendes Resultat:

Es betrug die Zahl der Keime auf:

Gelatineplatten . . . . .	8 800 000	Keime pro g
Agarplatten . . . . .	20 000 000	„ „ „
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . . . . .	8 000 000	„ „ „
Gesamtkeimzahl . . . . .	29 400 000	„ „ „

An Keimarten waren vorhanden:

Schimmelpilze . . . . .	=	24 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	=	22 %
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	=	20 %
<i>B. putidum</i> . . . . .	=	10 %
<i>B. coli</i> . . . . .	=	7 %
Kokken . . . . .	=	7 %
<i>Bacterium herbicola</i> . . . . .	=	5 %
Sproßpilze . . . . .	=	3 %
Aktinomyceten . . . . .	=	2 %
		100 %.

Trotz der langen Aufbewahrungszeit der Streu auf dem Stocke barg sie doch noch eine reiche Mikroflora.

Das Vorkommen zahlreicher Schimmelpilze ließ sich schon durch die Wahrnehmung eines etwas muffigen Geruches der Probe voraussehen, welche Vermutung sich durch die Untersuchung auch bestätigte. Für die weite Verbreitung der Gasbildner auf Streumaterialien, des *Bacterium acidilactici* und des *Bacterium coli*, haben wir hier einen neuen Beleg gefunden, da beinahe  $\frac{1}{3}$  aller Keime diesen beiden Spezies zufällt. Ihrer Gefährlichkeit für das Molkereigewerbe wegen haben wir ihrem Vorkommen immer besondere Aufmerksamkeit gewidmet, während wir der Reihe der übrigen, in dieser Probe sich aufhaltenden Arten weniger Interesse entgegenbrachten.

#### Schwarzstreuprobe No. 16.

Sie wurde einer frisch hergestellten sogenannten Triste (Schober) bei Ragenau am Etzel, Kt. Schwyz, entnommen. Der Standort der hauptsächlich aus *Molinia coerulea* bestehenden Streu war ein Flachmoor, in einer Höhe von 990 m.

Die am 3. November 1911 durchgeführte Untersuchung zeitigte folgendes Ergebnis:

Es wuchsen auf den

Gelatineplatten . . . . .	3 000 000 Keime pro g
Agarplatten . . . . .	1 800 000 „ „
In der Milchzuckeragar hohen Schicht . .	15 000 000 „ „

An der Gesamtkeimzahl von 18 700 000 beteiligten sich nachfolgende Arten:

Kokken . . . . .	13 000 000 =	69 %
<i>Bacillus putrificus</i> . . . . .	2 000 000 =	11 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) .	1 200 000 =	6 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	1 000 000 =	5 %
<i>B. punctatum</i> . . . . .	500 000 =	3 %
<i>B. coli</i> . . . . .	400 000 =	2 %
<i>B. herbicola</i> . . . . .	300 000 =	2 %
Sproßpilze . . . . .	300 000 =	2 %
		18 700 000 = 100 %.

Die in dieser Streu dominierend auftretenden Kokken hatten einen mittleren Durchmesser von 0,8  $\mu$  und lagen im mikroskopischen Bilde unbeweglich in Häufchen beieinander. Sie waren nur in den hohen Schichten aufgetreten und wir konnten sie weder auf den Gelatine-, noch auf den Agarplatten nachweisen. In sterile Milch verbracht, vermochten sie in ihr selbst nach Wochen keine nennenswerten Veränderungen hervorzubringen, weshalb wir diese Kokken nicht weiter verfolgt haben.

Ebenfalls war in der hohen Schicht der *Bacillus putrificus* anzutreffen. Er hatte hier nur schwache Gas- und Geruchsbildung hervor-

gerufen und es schien, daß er etwas degeneriert war. Die einzelnen, prozentual nur schwach vertretenen übrigen Bakterienarten waren meistens harmloser Natur, weshalb wir von ihrer detaillierten Besprechung absehen.

### Schwarzstreuproben No. 17 und No. 18.

#### Herkunft:

No. 17	No. 18
Von einer frisch hergestellten Triste (Schober) in der Ragenau am Etzel, Kt. Schwyz.	Von einer frisch hergestellten Triste (Schober) in der Enzenau am Etzel, Kt. Schwyz.
Unterlage der Streuwiese ist ein Flachmoor.	Unterlage der Streuwiese ist Rohhumus.
Meereshöhe 990 m.	Höhenlage 990 m.

#### Pflanzliche Zusammensetzung:

Fast ausschließlich <i>Pteris aquilina</i>	<i>Molinia coerulea</i> , <i>Nardus stricta</i> , <i>Pteris aquilina</i> .
---	--

Beide Proben, die mir gleich den 2 vorhergehenden Nummern 15 und 16 durch die Freundlichkeit von Herrn Prof. Dr. D ü g g e l i übermittelt wurden, kamen am 13. November 1911 zur Untersuchung.

#### Die Keimzahlen betragen pro g bei

	No. 17	No. 18
Auf Gelatineplatten . . . . .	14 000 000	730 000
„ Agarplatten . . . . .	12 000 000	250 000
In der Milchzuckeragar hohen Schicht .	28 000 000	—
Gesamtkeimzahl . . . . .	42 000 000	780 000

#### Artenbestand bei:

	No. 17	No. 18
Kokken . . . . .	48 %	3 %
<i>Bacterium herbicola</i> . . . . .	31 %	4 %
<i>Bacillus putrificus</i> . . . . .	19 %	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . .	2 %	—
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	—	3 %
Sproßpilze . . . . .	—	56 %
Schimmelpilze . . . . .	—	34 %
	100 %	100 %

Fast die Hälfte der Keime, die No. 17 beherbergte, waren kleine Kokken von  $\frac{3}{4} \mu$  Durchmesser, die in den Milchzuckeragar hohen Schichten unter anaëroben Verhältnissen gewachsen waren. In sterile Milch geimpft, bewirkten sie nach 8 Tagen leichte Serumausscheidung. Seiner Harmlosigkeit wegen maßen wir dem starken Auftreten von *Bacterium herbicola aureum* wenig Bedeutung zu, während der 19 Proz. der Gesamtflora umfassende *Bacillus putrificus* die bakteriologische Beurteilung dieser Streu in ungünstigem Lichte erscheinen läßt.

Der Bestand der Mikroflora von Probe No. 18 setzte sich vorwiegend aus Arten zusammen, die wir als häufige Luftbewohner kennen. So finden wir auf dieser Streu die verschiedensten Arten von Sproß- und Schimmelpilzen (*Mucor*, *Penicillium*) in größeren Mengen, neben welchen sich einige Keime des *Bacterium herbicola*, des *Bact. coli* und von Kokken in bescheidenem Maße bemerkbar machen.

## Schwarzstreuproben No. 19, No. 20, No. 21 und No. 22.

Sie stammen alle aus dem Gutsbetriebe der kantonalen bernischen Strafanstalt Witzwil.

Vorwiegend aus *Molinia coerulea* zusammengesetzt, machten die Proben, die verschiedenen Stöcken entnommen worden waren, den Eindruck einer guten, trockenen Streu. Die Unterlage, auf der sie gewachsen waren, ist der entwässerte Moorboden des großen Moores bei Witzwil, in einer Meereshöhe von 448 m.

Im Oktober 1911 zugesandt, kamen die ersten 2 Proben am 17. November 1911 und die übrigen am 25. November 1911 zur bakteriologischen Untersuchung.

Das Ergebnis war folgendes:

	Keimzahlen pro g			
	Gelatineplatten	Agarplatten	Milchzuckeragar hohe Schicht	Gesamtzahl
Bei No. 19 . .	3 100 000	1 070 000	130 000	3 300 000
„ No. 20 . .	64 000 000	90 000 000	4 000 000	104 000 000
„ No. 21 . .	510 000	970 000	170 000	990 000
„ No. 22 . .	510 000	150 000	50 000	560 000

Keimarten	No. 19 %	No. 20 %	No. 21 %	No. 22 %
Sproßpilze . . . . .	61	53	53	68
Schimmelpilze . . . . .	—	5	5	—
Aktinomyceten . . . . .	2	—	17	—
<i>Bacterium herbicola aureum</i> .	—	8	—	—
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	—	9	—	—
Gelber Säurebildner Levy . .	33	9	—	—
Unbekanntes Kurzstäbchen .	—	3	3	14
<i>Bacterium acidilactici</i> . . .	—	5	—	—
<i>B. coli</i> . . . . .	—	4	—	—
<i>Bacillus putrificus</i> . . . . .	1	4	2	—
Kokken . . . . .	3	—	20	18
	100	100	100	100

Neben der größten Keimzahl hat Probe No. 20 auch die meisten Arten aufzuweisen.

Als einheitliches Moment in der Zusammensetzung der Mikroflora aller Proben dürfen wir das starke Hervortreten von Sproßpilzen anführen, da sie überall mehr als die Hälfte der Keime ausmachen. Sehen wir die aufgestellte Tabelle der Keimarten durch, so treffen wir nirgends speziell für Milch gefährliche Arten, die auf einer der Streuproben in prozentual bedeutender Menge vorhanden wären. Der Gelbe Säurebildner in Probe 19 zeigte nur schwaches Säuerungsvermögen, er wäre somit auch beim Eindringen in Milch nicht sehr zu fürchten. Ein Blick auf die Untersuchungsergebnisse gibt uns die Überzeugung, daß diese 4 Streuproben als bakteriologisch gut qualifizierte anzusprechen sind.

## Schwarzstreuprobe No. 23.

Ich hatte sie als Streumuster im März 1912, gleichzeitig mit Proben von Torfstreu, von der Torfstreifabrik Oberriet im St. gallischen Rheintale bezogen.

In der floristischen Zusammensetzung ziemlich einheitlich den „Besenried“-Streu-Typus darstellend, zeichnete sich diese Probe durch ihren geringen Feuchtigkeitsgehalt aus.

Die Untersuchung erfolgte am 15. April 1912 und zeitigte folgende Resultate:

Zahl der Keime auf den Gelatineplatten pro g . . . . .	700 000
„ „ „ „ „ Agarplatten pro g . . . . .	1 100 000
„ „ „ „ „ in den Milchzuckerag. hohen Schichten pro g	120 000
Gesamtzahl der Keime pro g . . . . .	1 800 000.
Davon entfielen auf:	
<i>Bacterium herbicola aureum</i> . .	900 000 = 50 %
<i>B. putidum</i> . . . . .	650 000 = 36 %
Kokken . . . . .	120 000 = 7 %
Aktinomyceten . . . . .	80 000 = 4 %
<i>Bacillus mycoides</i> . . . . .	50 000 = 3 %
	1 800 000 = 100 %.

Die Hälfte der Vertreter des *Bact. herbicola*, die sich auf den Gelatineplatten durch wechselnde Farbstoffbildung auszeichneten, indem von dunkeln, goldgelben bis weißlich hellgelben Kolonien alle Abstufungen vorkamen, zeigte im mikroskopischen Bilde typische Involutionsformen.  
(Fortsetzung p. 58.)

Zusammenstellung der Keimzahlen sämtlicher Schwarzstreuproben.

No. der Probe	Gelatineplatten Keime pro g in Mill.	Agarplatten Keime pro g in Mill.	Milchzuckeragar hohe Schicht Keime pro g in Mill.	Gesamtkeimzahl in Mill. pro g
1	0,035	0,1	0,05	0,1502
2	10	30	2	30
3	4	16	1,4	18,1
4	31	44	1,5	50,5
5	12	35	1	35
6	150	550	16	570
7	1,2	4,2	2,5	7,1
8	11	12	0,4	14,4
9	11,6	27	0,4	32
10	3	44	37	61
11	7,7	7,7	1	8,7
12	0,3	0,8	3,2	4
13	—	200	—	200
14	260	390	1	460
15	8,8	20	8	29,4
16	3	1,8	15	18,7
17	14	12	28	42
18	0,73	0,25	—	0,78
19	3,1	1,07	0,13	3,3
20	64	90	4	104
21	0,51	0,97	0,17	0,99
22	0,51	0,15	0,05	0,56
23	0,7	1,1	0,12	1,8

Zusammenstellung der Keimarten sämtlicher Schwarzstreuproben.

No. der Schwarzstreuprobe	Kokken	Bact. herbicola	Gelber Säurebildner	Gelber Gasbildner	Bact. fluorescens	Bact. putidum	Bact. punctatum	Orange gefärbte Kurztstäbchen	Kurztstäbchen	Bact. Güntheri	Bact. acidilactici	Bact. coli	Bac. megatherium	Bac. mesentericus	Bac. subtilis	Bac. mycoides	Bac. putrificus	Aktinomyceten	Sproßpilze	Schimmelpilze	Total
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1	—	66	—	—	27	—	—	—	3	—	33	30	—	—	4	—	—	—	—	—	100
2	—	27	—	—	7	—	—	—	—	16	40	3	—	—	7	—	—	—	—	—	100
3	—	—	—	—	30	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	69	—	—	100
4	2	—	—	—	23	4	4	2	—	—	3	11	—	—	—	—	—	—	—	4	100
5	—	—	—	—	26	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	23	100
6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	44	—	12	100
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	17	—	—	—	35	38	—	10	100
8	—	56	—	—	28	—	7	—	—	—	—	7	—	—	—	—	2	—	—	—	100
9	9	30	—	—	21	—	—	—	21	—	6	—	—	—	8	—	11	—	—	5	100
10	—	28	—	—	5	—	—	—	—	—	49	—	—	—	—	—	8	—	—	7	100
11	4	40	—	—	16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	42	10	—	17	100
12	37	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—	3	100
13	—	68	—	—	27	—	—	—	—	—	11	5	—	—	33	—	2	15	—	6	100
14	11	—	—	—	—	—	—	—	6	—	—	7	—	—	—	—	—	2	—	24	100
15	7	5	—	—	—	10	—	—	—	20	22	—	—	—	—	—	11	2	3	—	100
16	69	2	—	—	5	—	3	—	6	—	—	2	—	—	—	—	19	—	2	—	100
17	48	31	—	—	—	—	—	—	2	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	100
18	3	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	56	34	100
19	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	2	61	—	100
20	—	8	—	—	9	—	—	—	3	—	5	—	—	—	—	—	4	—	53	5	100
21	20	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	2	17	53	5	100
22	18	—	—	—	—	—	—	—	14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	68	—	100
23	7	50	—	—	—	36	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	4	—	—	100

Ein ähnliches Verhalten konnte auch bei *Bacterium putidum* nachgewiesen werden, hier war namentlich die Farbstoffbildung der Gelatineplatten-Kolonien eine geringe, das Präparat im hängenden Tropfen wies dagegen keine Besonderheiten auf.

Die Kokken, Aktinomycceten und der *Bacillus mycoides* ließen nichts Auffallendes, weder in der Form, noch im physiologischen Verhalten, erkennen.

Es ist daher wohl anzunehmen, daß durch den starken Austrocknungsprozeß, den diese Streu erlitt, die Bakterien im engeren Sinne (Stäbchen ohne Sporen<sup>1)</sup>) Schaden gelitten haben und die angeführten Merkmale dadurch bedingt wurden. (Siehe die Zusammenstellungen auf Seite 56 u. 57).

Wie bei Stroh, so ist auch bei der Schwarzstreu die Zahl der sie bewohnenden Keime eine überaus hohe. Von den 23 untersuchten Proben hatte die mit No. 6 bezeichnete am meisten Keime, pro Gramm 570 Mill., diejenige von No. 7 am wenigsten, d. h. „nur“ 150 200 Keime in gleicher Gewichtsmenge aufzuweisen. Der Durchschnitt stellte sich auf rund 73 586 000 Keime pro Gramm; er steht somit wesentlich unter demjenigen der Strohproben, wo wir bekanntlich rund 115 Mill. nachweisen konnten.

Daß die Zahl der Keime von Probe zu Probe stark differiert, können wir uns leicht erklären, wenn wir die verschiedenen, sie bestimmenden und hier in Betracht fallenden Faktoren näher ins Auge fassen. Trocken geerntete Schwarzstreu wird von vornherein keimärmer sein, als solche, die längere Zeit vor dem Einheimsen bei Regenwetter im Freien lag, dabei schimmelig wurde, oder sonst beginnende Zersetzung zeigte. Weiterhin werden der Feuchtigkeitsgehalt des Aufbewahrungsraumes, sei es im Freien oder in offener und geschlossener Scheune, ferner die um und in dem Streustocke herrschenden Temperaturverhältnisse, das Alter der Streu, die floristische Zusammensetzung usw. sowohl für die Zahl, als auch unter Umständen für die Art der Keime maßgebend sein.

Nach der Häufigkeit ihres Vorkommens lassen sich die in den Schwarzstreu-proben gefundenen Keimarten folgendermaßen gruppieren:

1. <i>Bacterium herbicola</i> Burri et Duggeli. . . . .	14-mal	gefunden
2. Kokken und Schimmelpilze je . . . . .	13	„ „
3. <i>Bacterium fluorescens</i> (Flügge) L. et N. . . . .	12	„ „
4. <i>Bacillus putrificus</i> Bienstock. . . . .	11	„ „
5. <i>Bacterium coli</i> (Escherich) L. et N. . . . .	10	„ „
Aktinomycceten . . . . .		
6. <i>Bacterium acidilactici</i> Hueppe . . . . .	8	„ „
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .		
7. Sproßpilze . . . . .	7	„ „
8. Gelber Säurebildner Levy . . . . .	6	„ „
9. <i>Bacterium punctatum</i> (Zimm.) L. et N. . . . .	4	„ „
<i>Bacillus subtilis</i> F. Cohn . . . . .		
10. <i>Bacterium putidum</i> (Flügge) L. et N. . . . .	3	„ „
<i>Bacillus mesentericus</i> (Flügge) L. et N. . . . .		
11. <i>Bacterium Güntheri</i> L. et N. . . . .	2	„ „
12. Gelber Gasbildner Holliger. . . . .	1	„ „
Orange-Farbstoff bildende Kurzstäbchen . . . . .		
<i>Bacillus megatherium</i> De Bary . . . . .		

Analog den Befunden bei den Strohproben haben wir auch bei der Schwarzstreu als verbreitetste Bakterienart das *Bacterium herbicola* angetroffen. An zweiter Stelle folgen Kokken und Schimmelpilze. Für das häufige Vorkommen von Schimmelpilzen auf Schwarzstreu

<sup>1)</sup> Im Sinne von Lehmann u. Neumann.



dürfen wir nach unseren Beobachtungen die oft große Menge der darin enthaltenen und sehr leicht in Zersetzung übergehenden sogenannten „Heublumen“ (vorwiegend mehr oder weniger ausgereifte, mit den Spelzen versehene Scheinfrüchte oder Caryopsen der Gräser) verantwortlich machen, da sie den genannten Pilzen einen günstigen Nährboden darbieten, sobald durch Hinzutreten genügender Feuchtigkeit die Zersetzung beginnen kann. Hand in Hand mit den Schimmelpilzen machen sich auch eigentliche Fäulnisbakterien (*Bacillus putrificus*) an das Zerstörungswerk besagter Pflanzenteile. Fast die Hälfte aller Schwarzstreuproben enthält den *Bacillus putrificus*, was wir nicht als erfreuliche Tatsache ansehen können, da dieser Spaltpilz unter Umständen in Milch schädigend wirken kann, seine Anwesenheit in Streu deshalb keineswegs wünschenswert ist.

Ein Gleiches wäre hinsichtlich des Vorkommens von *Bacterium coli* und *B. acidilactici* zu sagen, da beide Arten, relativ häufig vorkommend, milchwirtschaftlich gesprochen, ebenfalls zu den Schädlingen gehören. Daß das *Bact. coli* in Pflanzenmassen, die eine nicht bedeutende Selbsterhitzung durchgemacht haben, wie in unserem Falle bei Schwarzstreuprobe No. 1, in erheblichem Maße auftritt, erwähnt auch Mische (62). Emmerling (24) traf bei seinen Untersuchungen über die Bakterienarten in gärendem Grase (Braunheubereitung) folgende Organismen: *Mucor*arten, Heubazillen, *Granulobacter*, mehrere Kokken und häufig *Bacillus mycoides*. Milchsäurebakterien fand genannter Autor nicht. Das starke Auftreten der *Bact. coli acidilactici*-Gruppe, wie bei unseren Prüfungen in den Proben No. 1, 2, 4, 10 usw., konnte auch A. Wolff (86) bei seinen Untersuchungen über Weidegras feststellen. Esten und Mason (26) erwähnen von den 25 am häufigsten auf Heu und Gras vorkommenden Arten: 10 sporenbildende Arten, 18 gelatineverflüssigende Spezies; 88 Proz. waren Stäbchen und 12 Proz. Kokken; Milchsäurebakterien konnten nicht nachgewiesen werden. Bei unsern vorliegenden Untersuchungen war, außer dem *Bacillus putrificus*, die Zahl der nachgewiesenen Bazillen eine recht geringe und noch spärlicher trafen wir das *Bacterium Güntheri*, den Gelben Gasbildner und ein in orangeroten Kolonien wachsendes Kurzstäbchen. Die Vermutungen, die wir bei der Besprechung der Stroh Bakterien hinsichtlich des Auftretens von Aktinomyceten erwähnten, haben auch für ihr Vorkommen auf Schwarzstreu Geltung. Daß in dieser, hauptsächlich aus Cyperaceen und Gramineen bestehenden Streu, das *Bacterium fluorescens* öfters in größeren Mengen zu finden ist, überrascht uns nicht, da schon früher, von andern Forschern bei ähnlichen Untersuchungen, diese Keimart angetroffen wurde. So zeigten neuere Forschungen von Weigmann und A. Wolff (84), daß die Mikroflora von Weidepflanzen, speziell bei naßkalter Witterung, mehr den psychrophilen Arten zuneigt und namentlich alkaliproduzierende und peptonisierende Bakterien, Sproß- und Schimmelpilze aufweist. Gruber (36) traf Fluoreszenten häufig auf Gräsern, wo sie vermöge ihrer Schleimbildung gut anhaften und auch dem Austrocknen lange Widerstand entgegensetzen können.

#### C. Einwirkung frischer und benutzter Schwarzstreu auf frische und sterilisierte Milch.

##### a) Versuche mit Schwarzstreuprobe No. 2.

Von den 23 untersuchten Schwarzstreuproben haben wir 2 herausgegriffen, um damit eine Reihe von Versuchen, die den Einfluß frischer und

benutzter Streu auf frische und sterilisierte Milch klarlegen sollten, durchzuführen. Die Art der Durchführung der Versuche geschah in analoger Weise, wie bei den Strohproben, weshalb wir hier auf das dort Gesagte verweisen.

Schwarzstreuprobe No. 2 erschien zu unseren Zwecken deshalb geeignet, weil die gasbildenden Milchsäurebakterien, die ja in milchwirtschaftlichen Betrieben besonders gefürchtet sind, darin sehr stark vertreten waren.

An die Spitze der Untersuchungsreihe möchten wir nochmals in Kürze das Resultat der für die nachfolgenden Serien verwendeten Schwarzstreuprobe No. 2 stellen.

**I. Schwarzstreuprobe No. 2. Untersuchungsergebnis pro g:**

<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	10 Mill. =	33 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	8 „ =	27 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	8 „ =	27 %
<i>Bacillus subtilis</i> . . . . .	2 „ =	7 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	1 „ =	3 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	1 „ =	3 %
		<hr/>
		30 Mill. = 100 %.

Die Herstellung und Untersuchung der Exkrement-Emulsion geschah in früher beschriebener Weise, indem 70 g Kuhkot mit 30 g Kuhharn innig vermischt wurden, und gelangte am 2. März 1910 mit folgendem Resultate zur Durchführung:

**II. Exkrement-Emulsion 4. Untersuchungsergebnis pro g:**

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	1 800 000 =	51 %
Kokken . . . . .	800 000 =	23 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	700 000 =	20 %
<i>Bacillus megatherium</i> . . . . .	100 000 =	3 %
Aktinomyeten . . . . .	100 000 =	3 %
		<hr/>
		3 500 000 = 100 %.

**Serie 10.**

Die Mikroflora benutzter Schwarzstreu verschiedenen Alters.

Drei Proben von Schwarzstreu No. 2, 5 g umfassend, wurden mit je 95 g Exkrement-Emulsion 4 gründlich gemischt, dann bei 18° C aufgestellt und nach 12, 24 bzw. 48 Stunden bakteriologisch auf gewohnte Art und Weise untersucht.

**III. Die frisch hergestellte benutzte Streu (95 g Exkrement-Emulsion + 5 g Schwarzstreu) enthielt in 100 g an Mikroorganismen:**

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	171 000 000 =	36 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	116 500 000 =	24 %
Kokken . . . . .	76 000 000 =	16 %
<i>Bacterium herbicola</i> . . . . .	40 000 000 =	8 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	40 000 000 =	8 %
<i>Bacillus subtilis</i> . . . . .	10 000 000 =	2 %
<i>B. megatherium</i> . . . . .	9 500 000 =	2 %
Aktinomyeten . . . . .	9 500 000 =	2 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	5 000 000 =	1 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	5 000 000 =	1 %
		<hr/>
		482 500 000 = 100 %.

In 1 g frischer, benutzter Streu fanden sich somit 4 825 000 Keime.

**III a. Benutzte Streu, 12 Stunden bei 18° C aufbewahrt.**

Untersucht am 2. März 1910. Befund pro g:

<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	10 000 000 Keime =	46 %
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	7 000 000 „ =	31 %
Kokken . . . . .	5 000 000 „ =	23 %
		<hr/>
		22 000 000 Keime = 100 %.

III b. Benutzte Streu, 24 Stunden bei 18° C aufbewahrt.

Untersucht am 3. März 1910. Befund pro g:

<i>Bacterium acidilactici</i> . . .	1 650 000 000	Keime =	67 %
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	700 000 000	„ =	26 %
Kokken . . . . .	100 000 000	„ =	7 %
	2 450 000 000	Keime =	100 %.

III c. Benutzte Streu, 48 Stunden bei 18° C aufbewahrt.

Untersucht am 4. März 1910. Befund pro g:

<i>Bacterium acidilactici</i> . . .	2 300 000 000	Keime =	54 %
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	1 100 000 000	„ =	30 %
Kokken . . . . .	500 000 000	„ =	12 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	200 000 000	„ =	4 %
	4 100 000 000	Keime =	100 %.

Aus den Keimzahlen ist zu ersehen, daß die frisch hergestellte benutzte Streu, die pro g 4 825 000 Keime enthielt, beim Aufbewahren bei 18° C schon nach 12 Stunden eine Keimvermehrung auf 22 Mill. konstatieren ließ. Bei einer Gärzeit von 24 bzw. 48 Stunden steigerte sich die Zahl der Keime noch beträchtlich und betrug in besagter Zeit 2450 Mill. bzw. 4100 Mill. Mikroben pro g.

Von den ursprünglich in der frischen benutzten Streu vorhandenen, zahlreichen Keimarten, gelangten nur einige wenige Spezies zu kraftvoller Entwicklung. Die günstigsten Entwicklungsbedingungen hat offenbar der Gasbildner *Bacterium acidilactici* getroffen, da diese Art sowohl nach 12, 24, wie nach 48 Stunden, in sehr großer Menge vorhanden ist. Das *Bacterium Güntheri* wird im Verlaufe des Versuches unbedeutend zurückgedrängt; ist es doch in allen Proben nach dem *Bacterium acidilactici* die am stärksten vertretene Keimart. Eine weniger intensive Vermehrung zeigen die Kokken, die nach 12 Stunden mit 5, nach 24 Stunden mit 100, nach 48 Stunden aber doch mit 500 Mill. an der Gesamtzahl partizipieren.

Das *Bacterium coli* tritt am Ende der Versuchsreihe noch in bescheidener Zahl auf, indessen *Bacterium fluorescens*, *Bacterium herbicola*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megatherium*, die Aktinomyeten und die nicht näher verfolgten Kurzstäbchen nicht mehr nachweisbar sind.

Es macht sich bei der Aufbewahrung der benutzten Schwarzstreu bei 18° C die Tendenz geltend, das *Bacterium acidilactici* auf Kosten der übrigen Spaltpilze zu fördern. Als Ursache dieser Erscheinung ist wohl der den Gasbildnern sehr förderliche Temperaturgrad von 18° C ausschlaggebend.

Serie 11.

Einwirkung benutzter Schwarzstreu auf sterilisierte Milch.

10 g der frischen benutzten Streu wurden mit 100 ccm sterilem Wasser innig vermengt und davon je 1 ccm =  $\frac{1}{10}$  g in 6 Kölbchen mit je 100 ccm sterilisierter Milch gebracht. Sodann stellten wir 3 Kölbchen zu 12° C und 3 zu 18° C.

Untersuchungsergebnisse:

Bezeichnung der Proben:	IV a	IV b	IV c	IV d	IV e	IV f
Aufbewahrungstemperatur:	12°	12°	12°	18°	18°	18°
Zeit bis zur Untersuchung:	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH:	3,2	3,2	3,4	3,2	3,8	12,6
Makroskopisches Aussehen:	Unverändert				Feinflockige Gerinnung der Milch	

Die ursprünglich keimfreie Milch enthielt nach der Impfung mit  $\frac{1}{10}$  g benutzter Streu, also zu Beginn der Versuche, 4825 Keime pro ccm.

Keimzahlen pro ccm	Gelatineplatten	Agarplatten	Milchzuckeragar hohe Schichten	Gesamt- keimzahl
Probe IV a. . .	2 400	3 700	1 000	3 700
„ IV b. . .	20 000	8 000	400	22 400
„ IV c. . .	3 000 000	550 000	300 000	3 000 000
„ IV d. . .	20 000	28 000	6 000	28 000
„ IV e. . .	60 000 000	45 000 000	40 000 000	60 000 000
„ IV f. . .	650 000 000	1 200 000 000	1 000 000 000	1 400 000 000

Bakterienflora in %	Benutzte Streu	IV a	IV b	IV c	IV d	IV e	IV f
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	8	—	—	—	—	—	7
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	8	—	—	—	—	5	—
<i>B. acidi lactici</i> . . . . .	24	5	9	27	36	83	71
<i>B. coli</i> . . . . .	1	—	—	—	—	2	15
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	36	54	2	66	36	—	—
Kokken . . . . .	16	33	89	7	28	2	7
<i>Bacillus subtilis</i> . . . . .	2	—	—	—	—	—	—
<i>B. megatherium</i> . . . . .	2	—	—	—	—	6	—
Kurzstäbchen (nicht weiter ver- folgt) . . . . .	1	—	—	—	—	2	—
Sarcinen . . . . .	—	5	—	—	—	—	—
Aktinomyceten . . . . .	2	3	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100	100

Aus der Keimzahltablelle ersehen wir, daß von den mit der benutzten Streu in die sterilisierte Milch eingebrachten Keimen ein Teil zugrunde geht, oder, im Wachstumsvermögen geschwächt, nicht mehr nachweisbar wird. Eine Verminderung der Keime tritt uns allerdings nur in Probe IVa entgegen; alle übrigen Proben zeigen eine deutliche Keimvermehrung, die namentlich in den bei 18° C aufbewahrten Proben intensiv vor sich gegangen ist; steigt doch beispielsweise in Probe IVf die Zahl der Mikroben auf das 290 156 fache der ursprünglich im ccm nachgewiesenen Menge.

Von den Bakterienarten sind es abwechselnd *Bacterium acidi lactici*, *Bacterium Güntheri* und die Kokken, welche die führende Rolle übernommen haben. Die tiefe Temperatur von 12° C wirkte begünstigend auf das Wachstum des *Bacterium Güntheri*, das nach 12 und 48 Stunden stärker hervortritt; ähnlich ergeht es den Kokken, die nach 24 Stunden bei 12° C prozentual ihre Höchstzahl erreichen. Diesen gegenüber vermag das *Bacterium acidi lactici* nur bescheiden aufzukommen. Sowie wir jedoch die bei 18° C aufgestellten Proben durchmustern, fällt uns das verstärkte Auftreten des *Bacterium acidilactici* auf, das bei Probe IVe prozentual sein Maximum erreicht, aber auch noch bei Probe IVf stark vertreten ist und dort, vereint mit dem *Bacterium coli*, die Milch, unter Produktion einer beträchtlichen Säuremenge, zur feinflockigen Gerinnung bringt. Der Konkurrenz der „Milchsäurebakterien“ sind das *Bacterium herbicola*, das *Bacterium fluorescens*,

die Bazillen, die nicht näher verfolgten Kurzstäbchen und die Aktinomyceten nicht gewachsen.

## Serie 12.

## Einwirkung benutzter Schwarzstreu auf frische Milch.

An Stelle der sterilisierten Milch kam in dieser Serie frische Milch zur Verwendung, indessen die Quantität der zur Impfung verwendeten benutzten Schwarzstreu die gleiche blieb, nämlich  $\frac{1}{10}$  g auf 100 ccm frische Milch.

Die zur Verwendung gelangende Milch war eine Mischmilch mehrerer Kühe von der landwirtschaftlichen Schule Strickhof bei Zürich; sie wurde 2 Stunden nach der Probeentnahme am 9. März 1910 bakteriologisch geprüft; das Resultat war folgendes:

## Frische Milch 3. Es ließen pro ccm nachweisen:

Die Gelatineplatten . . . . .	30 000 Keime
Die Agarplatten . . . . .	160 000 „
Die Milchzuckeragar hohen Schichten . .	70 000 „
Gesamtkeimzahl . . . . .	164 000 „

## Keimarten:

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	55 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	12 %
<i>B. aërogenes</i> . . . . .	12 %
<i>B. coli</i> . . . . .	12 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	2 %
Kokken . . . . .	7 %
	<hr/> 100 %.

Säuregrad n/10 NaOH: 2,8 ccm.

Zugleich mit der Untersuchung der frischen Milch kam diejenige der Exkrement-Emulsion 5 zur Durchführung; das Resultat war folgendes:

Auf Gelatineplatten . . . . .	170 000 Keime pro g
„ Agarplatten . . . . .	250 000 „ „ „
In der Milchzuckeragar hohen Schicht .	80 000 „ „ „
Gesamtkeimzahl . . . . .	280 000 „ „ „

## Keimarten:

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	35 %
Kokken . . . . .	28 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	25 %
<i>B. aërogenes</i> . . . . .	12 %
	<hr/> 100 %.

Für die Impfung der frischen Milch verwendeten wir benutzte Schwarzstreu, die aus einem Gemische von 5 g der Schwarzstreuprobe No. 2 und 95 g der Exkrement-Emulsion 5 bestand.

## 100 g der benutzten Streu enthielten an Mikroorganismen:

<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	56 650 000 = 33 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	40 000 000 = 22 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	40 000 000 = 22 %
<i>Bacillus subtilis</i> . . . . .	10 000 000 = 6 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	9 310 000 = 5 %
Kokken . . . . .	7 448 000 = 4 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	5 000 000 = 3 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) .	5 000 000 = 3 %
<i>Bacterium aërogenes</i> . . . . .	3 192 000 = 2 %
	<hr/> 176 600 000 = 100 %.

Kurze Zeit nach der Probeentnahme der frischen Milch verbrachten wir je 100 ccm derselben in 6 sterile Erlenmeyerkölbchen und beschickten ein jedes der Kölbchen noch mit  $\frac{1}{10}$  g der frischen benutzten Streu, indem eine größere Quantität benutzter Streu mit entsprechender Menge sterilen Wassers zerrieben wurde. 3 Kölbchen wurden zu 12° C und 3 zu 18° C gestellt; die Untersuchung der Proben erfolgte nach 12, 24 bzw. 48 Stunden in gewohnter Weise.

Durch Impfung der frischen Milch mit benutzter Streu erhielt erstere eine Zufuhr von 176 600 Keimen pro ccm; es enthielt somit zu Beginn des Versuches die geimpfte Milch 340 600 Mikroben pro ccm.

Der weitere Verlauf des Versuches gestaltete sich folgendermaßen:

#### Vorprüfung:

Bezeichnung der Proben . .	VI a	VI b	VI c	VI d	VI e	VI f
Aufbewahrungstemperatur .	12° C	12° C	12° C	18° C	18° C	18° C
Zeit bis zur Untersuchung .	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH	2,8	2,8	3,8	3,2	8,5	16,5

Makroskopisches Aussehen der Proben: Bei den Proben VI a—VI e konnte äußerlich keine merkliche Veränderung an der Milch konstatiert werden. Probe VI f zeigte einen säuerlichen Geruch, hatte unter dem Rahm eine 1 mm dicke Serumzone und dabei war die Flüssigkeit fein gallertig geronnen.

Die Anzahl der Keime betrug pro ccm bei den:

	Gelatineplatten	Agarplatten	Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamtkeimzahl
Probe VI a . . .	120 000	150 000	65 000	250 000
„ VI b . . .	4 700 000	1 700 000	5 000 000	7 400 000
„ VI c . . .	100 000 000	100 000 000	50 000 000	150 000 000
„ VI d . . .	1 600 000	1 500 000	3 500 000	4 200 000
„ VI e . . .	22 000 000	70 000 000	250 000 000	254 000 000
„ VI f . . .	1 200 000 000	200 000 000	450 000 000	1 200 000 000

Dabei hatte die Mikroflora folgende Zusammensetzung:

Keimart	Benutzte Streu %	Frische Milch %	VI a %	VI b %	VI c %	VI d %	VI e %	VI f %
Bacterium acidi lactici	33	12	42	7	—	7	—	—
B. aërogenes . . . . .	2	12	—	—	—	—	—	—
B. coli . . . . .	3	12	10	—	—	—	—	—
B. Güntheri . . . . .	5	55	40	67	25	83	98	100
B. fluorescens . . . . .	22	2	6	22	75	7	1	—
B. herbicola . . . . .	22	—	—	—	—	—	—	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . .	3	—	2	1	—	—	—	—
Kokken . . . . .	4	7	—	3	—	3	1	—
Bacillus subtilis . . .	6	—	—	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100	100	100

Eine Durchsicht der Keimzahltablelle weist deutlich darauf hin, wie die Tiefkühlung der Milch einen hemmenden Einfluß auf das Wachstum der Gesamtkeimmenge auszuüben vermag. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen,

daß nicht alle Arten gleichmäßig dieser Hemmung unterworfen sind, indem je nach der Aufbewahrungstemperatur der Milch, eine Auslese unter den Bakterien-Spezies vor sich geht.

So zeigen beispielsweise die in dieser Serie bei 12° C aufbewahrten Milchproben ausgesprochenes Anwachsen der Fluorescenten, die in Probe VIc  $\frac{3}{4}$  der Gesamtkeimmenge jener Milch ausmachen. Auf diese ausgesprochen psychrophile Natur des *Bacterium fluorescens* hat schon Luxwolda (61) hingewiesen.

Trotz der relativ großen Menge von Gasbildnern (*Bact. coli*, *B. acidilactici* und *B. aërogenes*), die schon von Anfang an in der Milch vorhanden waren, und, wie wir sehen, durch die benutzte Streu noch in vermehrtem Maße hinzu kamen, vermögen sie sich nur in der 12 Stunden bei 12° C aufbewahrten Probe VIa und schwach in VIb zu halten, um gegen das Ende des Versuches ganz zu verschwinden. Das durch die Streu eingeführte *Bacterium herbicola*, wie auch der *Bacillus subtilis*, verschwinden in allen aufgestellten Milchproben. Kurzstäbchen und Kokken nehmen stellenweise eine untergeordnete Stellung ein. *Bacterium Güntheri* nimmt in wechselnden Prozentsätzen, aber immerhin in recht ansehnlichem Maße, Anteil an der Zusammensetzung der Bakterienflora der tiefer gekühlten Milchproben.

Während in den Proben VIa—VIc *Bacterium fluorescens* und *Bact. Güntheri* die vorherrschenden Keimspezies sind, so gibt in den bei 18° C aufgestellten Milchproben *Bact. Güntheri* allein den Ausschlag. Rapid im Wachstum ansteigend, führt es in 48 Stunden die reine gallertige Säuerung der Milch durch, wobei keine der übrigen Keimarten mehr nachweisbar ist. Da im vorliegenden Falle die frische Milch, trotz starker Verunreinigung mittels Streu und Kuhkot, bei 18° C eine reine Milchsäuregärung erlitt, bei 12° C aber neben dem *Bact. Güntheri* noch andere Mikroben aufkamen, so wäre, gestützt auf unser Beispiel, vom rein hygienischen Standpunkte aus betrachtet, 18° C für eine mit gasbildenden Milchsäurebakterien stark verunreinigte Milch als Aufbewahrungstemperatur vorzuziehen. Daß dabei das ökonomisch wichtige Moment der Haltbarkeit der Milch ungenügend berücksichtigt wird, ist von vornherein klar.

Auf den Umstand, daß tiefe Temperaturen die echten Milchsäurebakterien im Konkurrenzkampfe mit anderen Arten zugunsten weniger erwünschter Mikroben zu sehr in den Hintergrund drängen, haben schon Pies (69), Ravenal, Hastings und Hammer (72) in ihren Arbeiten über Tiefkühlung der Milch hingewiesen.

### Serie 13.

#### Einwirkung frischer Schwarzstreu auf frische Milch.

Am 17. Februar 1910 wurde die für diese Versuchsserie verwendete Milch sofort nach der Probeentnahme bakteriologisch geprüft und gleichzeitig davon je 100 ccm in 4 Erlenmeyerkölbchen verteilt, je mit  $\frac{1}{100}$  g Schwarzstreu No. 2 geimpft und zu den vorgeschriebenen Temperaturen von 12° C und 18° C gestellt. Von jeder Temperaturstufe gelangte eine Probe nach 24 Stunden, die andere nach deutlich wahrnehmbarer makroskopischer Veränderung der betreffenden Milch zur Verarbeitung.

Die Prüfung der frischen Milch 4, die einen Säuregrad von 2,9 ccm n/10 NaOH aufwies, ergab:

Zweite Abt. Bd. 47.

5



## Menge der Keime pro ccm:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	1 200 000
„ „ Agarplatten . . . . .	1 400 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . . . .	1 000 000

Von der Gesamtkeimzahl von 1,4 Mill. Bakterien pro Gramm waren 99 Proz. *Bacterium Güntheri* und 1 Proz. Kokken und Sarcinen.

Da nun 100 ccm dieser frischen Milch 4 mit der Mikroflora von  $\frac{1}{100}$  g Schwarzstreu in der Weise versehen wurde, daß eine größere Menge Schwarzstreu mit entsprechender Menge sterilem Wasser im sterilen Tiegel zum Zerreiben gelangte, so brachten wir pro ccm zu den vorhandenen 1 400 000 Keimen noch weitere 3000 hinzu. Zu Beginn der Versuche betrug die Gesamtkeimzahl pro ccm Milch also 1 403 000 Mikroorganismen.

Die Untersuchung ergab folgende Resultate:

## Vorprüfung:

Bezeichnung der geimpften Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VII a	12° C	24 Std.	2,9
VII b	12° C	7 Tage	15,7
VII c	18° C	24 Std.	23,4
VII d	18° C	4 Tage	27,3

Im makroskopischen Aussehen war Probe VII a unverändert, d. h., die Milch war noch flüssig.

Probe VII b zeigte nach 7 Tagen auf der intakten Rahmdecke einen schwachen Schimmelbelag, unter dem Rahme eine 3 mm breite Serumzone, während das Kasëin gallertig geronnen war.

Probe VII c wies schwach säuerlichen Geschmack auf; unter der unveränderten Rahmdecke war reichlich Serum zur Ausscheidung gelangt, während das Kasëin feinflockig bis gallertig geronnen war.

In Probe VII d befand sich unter der intakten Rahmdecke eine feine Serumzone, während die übrige Milch reine gallertige Gerinnung zeigte.

## Die gefundene Menge der Keime betrug pro ccm:

Bezeichnung der Probe	Gelatineplatten	Agarplatten	Milchzuckeragar hohe Schichten	Gesamtkeimzahl
VII a	22 000 000	18 000 000	12 000 000	22 000 000
VII b	100 000 000	—	200 000 000	200 000 000
VII c	500 000 000	310 000 000	300 000 000	500 000 000
VII d	1 250 000 000	2 000 000 000	130 000 000	2 000 000 000

Aus obigen Zahlen ersehen wir, daß die Vermehrung der Keime in den bei 12° C aufbewahrten Milchproben viel langsamer vor sich ging, als dies bei den zu 18° C gestellten Proben der Fall war. Hinsichtlich der Keimarten ist zu bemerken, daß sämtliche Proben, von VII a—VII d, als einzigen Vertreter der Mikroflora das *Bacterium Güntheri* aufwiesen, weshalb wir auf eine tabellarische Übersicht der qualitativen Untersuchungsergebnisse an dieser Stelle verzichten.

Die hohe Keimzahl der frischen Milch einerseits und das Überwiegen des *Bacterium Güntheri* andererseits sind die beiden Momente, die bei sämtlichen Proben in der Folge eine reine Milchsäuregärung hervorgerufen haben. Dabei ist ein Einfluß der mit der Schwarzstreu in die Milch gebrachten Spaltpilze auf die Mikroflora der kürzere oder längere Zeit bei 12° C oder 18° C aufgestellten Milch nicht wahrzunehmen.

## Serie 14.

## Einwirkung frischer Schwarzstreu auf sterilisierte Milch.

Am 16. Februar 1910 wurden 5 g der Schwarzstreu No. 2 in ausgeflamtem Tiegel mit 500 ccm sterilem Wasser tüchtig zerrieben und davon je 1 ccm =  $\frac{1}{100}$  g in 4 *Erlenmeyer* kölbchen gebracht, die mit je 100 ccm durch Wärme sterilisierte Milch gefüllt waren. Das Aufstellen von je 2 Milchproben erfolgte bei 12° C und 18° C, die Untersuchung nach 24 Stunden und dem Zeitpunkte der makroskopischen Veränderung der Proben.

Durch das Impfen von 100 ccm sterilisierter Milch mit  $\frac{1}{100}$  g Schwarzstreu No. 2 wurden pro ccm 3000 Keime in die Milch gebracht.

Bezeichnung der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VIII a	12° C	24 Std.	3,2
VIII b	12° C	8 Tage	6
VIII c	18° C	24 Std.	3,2
VIII d	18° C	5 Tage	9,5

## Makroskopisches Aussehen der Milchproben:

Probe VIII a unverändert.

Probe VIII b zeigte nach 8 Tagen feinflockige Gerinnung, sowie eine Serumzone von 4 mm Mächtigkeit unter der Rahmdecke.

Probe VIII c unverändert.

Probe VIII d. Die gelblich-grün gefärbte Rahmdecke war von vielen Blasen durchsetzt. In dem reichlich ausgepreßten, grünlichen Serum schwamm das gallertig geronnene, von vielen kleinen Gasblasen durchlöchernte *Coagulum*; der Kölbcheninhalt wies einen käsig stinkenden Geruch auf.

## Keimzahlen: Zahl der Keime pro ccm Milch.

Bezeichnung der Probe	Gelatineplatten	Agarplatten	Milchzuckeragar hohe Schicht	Gesamtkeimzahl
VIII a	190	5 000	—	5 100
VIII b	2 200 000 000	1 400 000 000	250 000 000	2 450 000 000
VIII c	950 000	1 500 000	45 000	1 500 000
VIII d	1 600 000 000	2 100 000 000	—	2 200 000 000

Bemerkenswert ist die gewaltige Vermehrung der Spaltpilze bei 18° C in 5 Tagen von 3000 auf 2200 Mill. pro ccm und bei 12° C in 8 Tagen von 3000 auf 2450 Mill. pro ccm Milch.

5\*

## Übersicht der Keimarten.

Art der Keime	Streuprobe No. 2 %	VIII a %	VIII b %	VIII c %	VIII d %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	33	—	—	—	—
<i>B. coli</i> . . . . .	3	—	—	—	—
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	27	98	82	—	73
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	27	2	18	66	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt)	3	—	—	—	—
<i>Bacillus subtilis</i> . . . . .	7	—	—	34	27
	100	100	100	100	100

Die psychrophile Natur des durch die Streu in die Milch gebrachten *Bact. fluorescens* verschafft ihm in den kühl aufbewahrten Milchproben (bei 12° C) die Oberhand, da einzig *Bact. herbicola aureum* dieser raschen Vermehrung einigermaßen zu folgen vermag und, vereint mit *Bact. fluorescens*, die Ursache der feinflockigen Gerinnung der Milch von Probe VIII b darstellt.

Da auch in den Proben VIII c und VIII d obgenannte Bakterien abwechselnd das Feld beherrschen, müssen wir sie als die unter den gebotenen Verhältnissen von allen Schwarzstreubakterien der verwendeten Probe No. 2 am besten an das Nährmedium (sterilisierte Milch) angepaßten Formen bezeichnen. Die Gasbildner, die sich sonst mit Vorliebe bei höherer Temperatur bemerkbar machen, verschwinden völlig, bzw. sind nicht mehr nachweisbar. Der *Bacillus subtilis* tritt in den Proben VII c und VII d in größerer Menge auf und macht neben *Bact. herbicola aureum* 34 Proz., neben *Bact. fluorescens* 27 Proz. der Gesamtflora aus.

## b) Versuche mit Schwarzstreuprobe No. 23.

Das Ausgangsmaterial zu diesen Versuchsserien bildete die Schwarzstreuprobe No. 23 mit folgender bakteriologischer Zusammensetzung:

Auf eine Gesamtkeimzahl von 1 800 000 Keimen pro Gramm entfielen:

<i>Bacterium herbicola aureum</i> . . . . .	900 000 Keime = 50 %
<i>B. putidum</i> . . . . .	650 000 „ = 36 %
Kokken . . . . .	120 000 „ = 7 %
Aktinomyeten . . . . .	80 000 „ = 4 %
<i>Bacillus mycoides</i> . . . . .	50 000 „ = 3 %
	1 800 000 Keime = 100 %.

## Serie 15.

Die Mikroflora benutzter Schwarzstreu verschiedenen Alters.

95 g einer Emulsion von Kuhkot und Harn (Exkrement-Emulsion 6) wurden am 16. April 1912 5 g der Schwarzstreuprobe No. 23 beigelegt und das Ganze gut durchgemischt. Das so erhaltene Gemisch wurde in 3 ungefähr gleich große Portionen geteilt und in Bechergläsern zu 18° C gestellt. Die bakteriologische Untersuchung dieses Gemisches von Streu und Exkrement-Emulsion, der sogenannten benutzten Schwarzstreu, erfolgte nach 12, 24 bzw. 48 Stunden dauerndem Aufenthalt bei 18° C.

Die Untersuchung der frischen Exkrement-Emulsion 6 für sich ergab folgenden Befund:

Bacterium Güntheri . . . . .	7 000 000	Keime pro g =	84 %
Aktinomyceten . . . . .	800 000	„ „ „ =	9 %
Bacillus mesentericus . . . . .	300 000	„ „ „ =	4 %
B. megatherium . . . . .	170 000	„ „ „ =	3 %
Bacterium putidum . . . . .			
Schimmelpilze . . . . .			
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt)			
8 270 000		Keime pro g = 100 %	

Die bakteriologische Zusammensetzung von 100 g benutzter Schwarzstreu, bestehend aus 95 g Exkrement-Emulsion, 6 und 5 g der Schwarzstreuprobe No. 23 war folgende:

Bacterium Güntheri . . . . .	665 000 000 =	84 %
Aktinomyceten . . . . .	76 400 000 =	9 %
Bacillus mesentericus . . . . .	28 500 000 =	4 %
Kokken . . . . .	24 750 000 =	3 %
Bacterium putidum . . . . .		
B. herbicola aureum . . . . .		
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .		
Bacillus mycoides . . . . .		
B. megatherium . . . . .		
Schimmelpilze . . . . .		
<hr/>		
	794 650 000 =	100 %

1 g der frisch hergestellten benutzten Schwarzstreu enthielt somit 7 946 500 Keime.

Untersuchungsergebnisse der gestandenen benutzten Schwarzstreu.  
Keimzahlen pro g:

Nährboden	Probe III a nach 12 Std. bei 18° C	Probe III b nach 24 Std. bei 18° C	Probe III c nach 48 Std. bei 18° C
Auf den Gelatineplatten . . . . .	1 000 000	31 000 000	120 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	380 000	85 000 000	100 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . . . . .	1 400 000	50 000 000	50 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	2 730 000	85 000 000	120 000 000

Nach 12 Stunden bei 18° C können wir in der Probe III a ein Zurückgehen der Keimzahlen gegenüber der frischen benutzten Streu konstatieren, dem dann in den folgenden 12 Stunden ein Anwachsen der Keime folgt, das immerhin auch nach 48 stündiger Versuchsdauer für diese Verhältnisse, verglichen mit früheren Befunden entsprechender Art, als recht bescheiden anzusehen ist. Hinsichtlich Zusammensetzung der Bakterienflora siehe die Übersicht auf der folgenden Seite.

Der hohe Gehalt der frischen benutzten Streu an *Bact. Güntheri* sicherte dieser Spaltpilzspezies auch im weiteren Verlaufe des Versuches in allen Proben eine stattliche prozentuale Vertretung. Da die Arten der in der Schwarzstreu No. 23 vorgefundenen Kokken mit denen, die wir in allen 3 Proben III a—III c angetroffen haben, übereinstimmen, so ist ihr Auftreten wohl der Streuinfektion zuzuschreiben. Das Gleiche wäre auch vom *Bact. herbicola* zu sagen, doch vermag sich dieser Spaltpilz nicht, wie die Kokken, stark zu vermehren, sondern ist einzig in Probe III a noch kaum nachweisbar.

Nach 24 stündigem Aufenthalt der benutzten Streu bei 18° C sind *Bact. coli* und *Bact. acidilactici* in diesem Material mit 8 bzw. 12 Proz. der Gesamtkeimzahl nachweisbar; es spielen im vorliegenden

Bakterienflora	Benutzte Schwarz- streu %	Probe III a %	Probe III b %	Probe III c %
Kokken . . . . .	+ <sup>1)</sup>	33	41	42
Bacterium herbicola aureum . . . . .	+	4	—	—
Bacillus mycoides . . . . .	+	—	—	—
B. mesentericus . . . . .	4	—	7	—
Bacterium Güntheri . . . . .	84	51	26	58
B. coli. . . . .	—	—	8	—
B. acidi lactici . . . . .	—	—	12	—
Aktinomyceten . . . . .	9	10	—	—
Bacillus megatherium . . . . .	+	—	—	—
Bacterium putidum . . . . .	3	—	—	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	+	—	6	—
Schimmelpilze . . . . .	+	2	—	—
	100	100	100	100

Falle diese, sonst so häufigen Bewohner von Dünger nur eine untergeordnete Rolle. Nebensächlicher Natur ist auch das Vorkommen von *Bac. mesentericus* und von nicht weiter verfolgten Kurzstäbchen in der aufbewahrten benutzten Streu nach 24 Stunden.

#### Serie 16.

Einwirkung benutzter Schwarzstreu auf sterilisierte Milch.

Die in Serie 15 verwendete frische Exkremente-Emulsion 6, vermengt mit Schwarzstreu No. 23, wurde zu je  $\frac{1}{100}$  g in 6 durch Wärme sterilisierte Milchproben à 100 ccm geimpft und diese bei 12° C und 18° C aufgestellt, sowie nach 12, 24 bzw. 48 Stunden bakteriologisch geprüft<sup>2)</sup>.

Durch das Impfen der sterilen Milch mit benutzter Streu führten wir der Flüssigkeit pro ccm 794 Keime zu.

#### Vorprüfung.

Bezeichnung der Proben:	IV a	IV b	IV c	IV d	IV e	IV f
Aufbewahrungstemperatur .	12°	12°	12°	18°	18°	18°
Zeit bis zur Untersuchung .	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH	3,7	3,7	3,9	3,7	3,9	5,1

Makroskopisches Aussehen: Probe IV a—IV e unverändert.

Probe IV f. Flüssigkeit intakt, einzelne Gasblasen unter der Rahmdecke.

#### Keimzahlen pro ccm Milch.

Probe	Gelatineplatten	Agarplatten	Milchzuckeragar hohe Schicht	Gesamtkeimzahl
IV a	1 300	800	900	3 000
IV b	500	300	300	600
IV c	15 000	12 000	10 000	25 000
IV d	220	250	600	930
IV e	10 000	5 000	40 000	44 000
IV f	56 000 000	63 000 000	63 000 000	91 000 000

<sup>1)</sup> + bedeutet: Vorhanden, aber weniger als  $\frac{1}{2}$  % der Gesamtkeimzahl ausmachend.

<sup>2)</sup> Dabei gingen wir hier, wie bei anderen Versuchsserien, um Durchschnittsergebnisse zu erhalten, so vor, daß mehrere Gramm benutzter Streu mit entsprechenden Quantitäten sterilisierten Wassers zerrieben, zur Impfung Verwendung fanden.

## Übersicht der Arten.

Arten	Benutzte Schwarz- streu %	IV a %	IV b %	IV c %	IV d %	IV e %	IV f %
Kokken . . . . .	+ <sup>1)</sup>	23	50	60	21	9	23
Bacterium herbicola aureum .	+	—	—	—	2	—	—
Bacillus mycoides . . . . .	+	—	—	—	—	—	—
B. mesentericus . . . . .	4	—	—	—	15	—	—
Bacterium Güntheri . . . . .	84	—	50	40	43	—	23
B. coli . . . . .	—	—	—	—	—	—	8
B. acidi lactici . . . . .	—	—	—	—	—	91	46
Aktinomyeten . . . . .	9	27	—	—	—	—	—
Bacillus megatherium . . . . .	+	—	—	—	—	—	—
Bacterium putidum . . . . .	3	—	—	—	6	—	—
Kurzstäbchen (nicht weiter ver- folgt) . . . . .	+	—	—	—	—	—	—
Schimmelpilze . . . . .	+	—	—	—	10	—	—
Sproßpilze . . . . .	—	43	—	—	—	—	—
Bacillus putrificus . . . . .	—	7	—	—	—	—	—
Langstäbchen (nicht weiter ver- folgt) . . . . .	—	—	—	—	3	—	—
	100	100	100	100	100	100	100

Die in die sterile Milch versetzten Streu- und Düngerbakterien haben wohl alle das Bestreben, sich dem neuen Nährmedium anzupassen und zur Vermehrung zu schreiten. Alle bei 18° C aufgestellten Proben zeigten denn auch progressiv mit zunehmendem Alter eine steigende Keimzahl, die in Probe IV f mit 91 Mill. Keimen pro cem Milch ihre Höchstzahl erreichte.

Die tiefer gekühlten Proben zeigten nicht dieses regelmäßige Anwachsen der Bakterienzahl, da nach 24 Stunden eine merkliche Keimverminderung Platz gegriffen hatte, um nachträglich wieder anzusteigen in der Keimzahl, dabei allerdings dem Einflusse der Temperatur folgend, quantitativ immer noch wesentlich hinter der gleichalterigen Probe von 18° C zurückbleibend.

Wiederum sind es Kokken und Bacterium Güntheri, die sich in den Proben IV a—IV c am besten zu behaupten vermochten; wir können bei diesen Proben eine ähnliche Entwicklung hinsichtlich der Mikroflora beobachten, wie das bei Serie 15 der Fall war. Auch dort sind wir den Aktinomyeten in dem zeitlich am kürzesten bemessenen Versuche begegnet. Als neues Moment haben wir im vorliegenden Versuche bei Probe IV a allerdings ein sporadisch starkes Auftreten von Sproßpilzen mit kugelförmiger Gestalt, in der Übersicht kurz Sproßpilze genannt, sowie einiger Vertreter der Gruppe des *Bac. putrificus* Bienst. Beide Mikroorganismen verschwinden nach längerer Versuchsdauer völlig.

Gewöhnlich zeigen die 12 Stunden aufbewahrten Proben eine relativ hohe Zahl von Arten, die bei längerer Dauer der Versuche, so z. B. nach 48 Stunden, eine bedeutende Reduktion erfährt. Diese Auslese der Arten zeigt die bei 18° C aufgestellte Versuchsreihe deutlich; von den zu Beginn des Versuches prozentual nachweisbaren Mikroorganismen (*Bac. mesentericus*, *Bact. herbicola aureum*, *Bact. putidum*, nicht näher studierten Langstäbchen und Mycelpilzen) waren späterhin

<sup>1)</sup> + Bedeutet: Vorhanden, aber weniger als ½ % der Gesamtkeimzahl ausmachend.

keine mehr zu konstatieren. Auffallend ist bei Probe IVe das temporär vorherrschende Erscheinen eines an den *Bact. aërogenes*-Typus erinnernden, dabei auf Milchzuckeragarplatten in schleimigen Kolonien wachsenden *Bact. acidilactici*, das hier die Kokken beinahe und das *Bact. Güntheri* ganz verdrängt hatte.

Den Kolonien des Mikroorganismus entströmten Duftstoffe, die sehr an jene des Bienenhonigs erinnerten, eine Erscheinung, die wir bei *Bacterium acidilactici* Hueppe sonst nicht beobachten konnten.

Nach 48 Stunden umfassender Gärzeit (Probe IVf) sind die Kokken und das *Bacterium Güntheri* zwar wieder in größerer Menge nachweisbar, werden aber doch von den gasbildenden Milchsäurebakterien (*Bacterium acidilactici* und *Bacterium coli*), die zusammen 54 Proz. der Gesamtkeimzahl ausmachten, übertroffen. Dieser Befund erklärt uns die hinsichtlich des makroskopischen Aussehens jener Probe gemachten Beobachtungen betreffend Gasbildung vollständig.

### Serie 17.

#### Einwirkung benutzter Schwarzstreu auf frische Milch.

Zur Durchführung dieses Versuches benötigten wir 6 mit 100 ccm frischer Milch gefüllte Erlenmeyerkölbchen, von denen jedes mit  $\frac{1}{100}$  g sogenannter benutzter Streu (eines Gemisches von 95 g Exkrement-Emulsion mit 5 g Streu) beschickt wurde.

Die Aufbewahrung der geimpften Milchproben erfolgte bei 12° C und 18° C, die Untersuchung nahmen wir nach 12, 24 bzw. 48 Stunden vor.

Wie gewohnt, wurde zu Beginn des Versuches sowohl die Kuhkot-Harn-Mischung (Exkrement-Emulsion 7), als auch die frische Milch für sich, 2 Stunden nach der Probeentnahme, bakteriologisch untersucht.

#### Befund in der frischen Milch 5. Datum: 19. April 1912.

##### In quantitativer Hinsicht:

	Bakterien pro ccm
Auf den Gelatineplatten . . . . .	38 000
Auf den Agarplatten . . . . .	48 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten	11 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	71 000

##### In qualitativer Hinsicht:

Kokken . . . . .	36 000 = 51 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	19 000 = 27 %
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	11 000 = 15 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	3 000 = 4 %
Langstäbchen ( „ „ „ ) . . . . .	2 000 = 3 %
	<hr/> 71 000 = 100 %

#### Befund in der Exkrement-Emulsion 7. Datum: 19. April 1912.

##### In quantitativer Hinsicht:

	Bakterien pro g
Auf den Gelatineplatten . . . . .	300 000
Auf den Agarplatten . . . . .	320 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten	650 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	1 150 000



## In qualitativer Hinsicht:

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	500 000 =	43 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	220 000 =	19 %
Kokken . . . . .	150 000 =	13 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	100 000 =	9 %
Aktinomyeten . . . . .	90 000 =	8 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	60 000 =	5 %
<i>B. prodigiosum</i> . . . . .	30 000 =	3 %
	1 150 000 =	100 %.

In der frischen Milch waren vorwiegend Kokken von  $\frac{3}{4}$ — $1\mu$  Durchmesser, wie sie in frisch ermolkenen Milch häufig angetroffen werden, nachweisbar; daneben fanden sich nicht unbedeutende Mengen von *Bacterium acidilactici* und von *Bacterium Güntheri*, während die nicht weiter verfolgten Kurzstäbchen, sowie die involvierten Langstäbchen, quantitativ zurücktraten.

Der Säuregrad der frischen Milch betrug 3,2 ccm n/10 NaOH.

Die Exkrememente-Emulsion ist auffallend reich an *Bacterium Güntheri*, doch sind auch die Gasbildner *Bacterium acidilactici* und *Bacterium coli*, sowie Kokken in ansehnlicher Menge vertreten. Erwähnenswert ist das Vorhandensein eines auf Agar intensiv roten Farbstoff produzierenden *Bacterium prodigiosum*, das sich durch ausgeprägt lappige Beschaffenheit des Kolonienrandes auszeichnete, welche Eigentümlichkeit bei der Weiterzüchtung stets wieder zum Vorschein kam. Offenbar handelt es sich um eine Rasseneigentümlichkeit dieser Art, da auch Lehmann und Neumann solche Formen beobachtet haben. (Vergleiche die bakteriologische Diagnostik der genannten Autoren.)

100 g der für die Impfung der Milch 5 verwendeten benutzten Schwarzsau (95 g Exkrememente-Emulsion 7 und 5 g Schwarzsau No. 23) enthielten folgende Mikroorganismen:

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	47 500 000 =	40 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	20 900 000 =	18 %
Kokken . . . . .	14 850 000 =	13 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	9 500 000 =	8 %
Aktinomyeten . . . . .	8 950 000 =	7 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	5 700 000 =	5 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	4 500 000 =	4 %
<i>B. putidum</i> . . . . .	3 250 000 =	3 %
<i>B. prodigiosum</i> . . . . .	2 850 000 =	2 %
<i>Bacillus mycoides</i> . . . . .	250 000 =	+
	118 250 000 =	100 %.

Durch das Impfen von 100 ccm Milch mit  $\frac{1}{100}$  g benutzter Streu wurden der frischen Milch pro ccm 118 Keime zugefügt.

Da in der frischen Milch pro ccm schon 71 000 Keime vorhanden waren, so betrug der Keimgehalt der geimpften frischen Milch zu Beginn des Versuches 71 118 Mikroorganismen pro ccm.

# Untersuchungsergebnisse bei den geimpften Milchproben.

## Vorprüfung:

Bezeichnung der Proben	VI a	VI b	VI c	VI d	VI e	VI f
Aufbewahrungstemperatur .	12°	12°	12°	18°	18°	18°
Zeit bis zur Untersuchung .	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH	3,2	3,2	3,4	3,7	3,9	16,8

**Makroskopisches Aussehen:** Probe VI f zeigte den Typus der gallertigen Gerinnung; die übrigen Milchproben waren unverändert.

## Anzahl der Keime pro ccm bei:

Probe	Gelatineplatten	Agarplatten	Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamtkeimzahl
VI a	48 000	52 000	13 000	62 000
VI b	123 000	100 000	20 000	144 000
VI c	29 000 000	28 000 000	3 000 000	40 000 000
VI d	80 000	83 000	30 000	105 000
VI e	52 000 000	60 000 000	17 000 000	84 000 000
VI f	500 000 000	700 000 000	600 000 000	790 000 000

## Qualitativer Befund:

Keimart	Benutzte Schwarzstreu %	Frische Milch 5 %	VI a %	VI b %	VI c %	VI d %	VI e %	VI f %
Kokken . . . . .	13	51	39	45	25	69	47	4
Bacterium putidum . .	3	—	—	7	40	—	14	13
B. punctatum . . . .	—	—	—	21	15	—	—	—
B. herbicola aureum .	4	—	—	—	—	—	—	—
B. prodigiosum . . . .	2	—	—	—	—	—	1	7
B. Güntheri . . . . .	40	15	21	3	10	19	14	76
B. acidi lactici . . . .	18	27	29	14	10	7	10	—
B. coli . . . . .	5	—	—	—	—	—	—	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . .	—	4	—	—	—	—	—	—
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) . .	—	3	—	5	—	—	—	—
Bacillus mesentericus .	8	—	—	5	—	—	6	—
B. mycoides . . . . .	+	—	—	—	—	—	—	—
B. oxalaticus Zopf . .	—	—	—	—	—	—	8	—
Aktinomyceten . . . .	7	—	11	—	—	5	—	—
	100	100	100	100	100	100	100	100

Die Keimzahl-Tabelle veranschaulicht aufs Neue den des öftern schon erwähnten hemmenden Einfluß der Tiefkühlung der Milch auf das Wachstum der Bakterien, wobei in den ersten 12 Stunden bei 12° C Aufbewahrungstemperatur die eruierebare Keimzahl der Milch sinkt.

Hinsichtlich der Keimarten bemerken wir ein stetes prozentual wechselndes Auftreten der Kokken in sämtlichen Proben, was uns nicht verwundert, da schon die Milch reich an solchen Mikroorganismen war und durch die be-

nutzte Streu noch neue hinzu kamen. Die bei 12° C gehaltenen Proben zeigten mit fortschreitendem Alter ein deutliches Zurückgehen des *Bacterium Güntheri* und des *Bacterium acidilactici* zugunsten des zu den Fluorescenten gehörenden *Bacterium putidum* und des peptonisierenden *Bacterium punctatum*. Andererseits begünstigt die höhere Temperatur von 18° C auffällig die eigentlichen nicht gasbildenden Milchsäurebakterien, wie Probe VI f zeigt, die neben *Bacterium Güntheri*, das 76 Proz. der Gesamtkeimzahl ausmacht, in bescheidener Menge *Bacterium putidum*, *Bacterium prodigiosum* und Kokken nachweisen läßt.

Ähnliche Resultate, wie die unserigen, hat schon vander Leek (57) erhalten, der konstatierte, daß in einer Milch, bei 15° C gehalten, bei gehemmter Säuerung vorerst fluoreszierende Arten auftreten, indessen bei einer Temperatur von mehr als 23° C *Bacterium Güntheri* die Alleinherrschaft gewinnt.

Über den Einfluß der Temperatur auf das Wachstum der Bakterien in Milch schreibt Luxwolda (60): „Bei Temperaturen um 20° C ist das Wachstum der Milchsäurebakterien so kräftig, daß alle übrigen, auch die schädlichen peptonisierenden Bakterien, überwuchert und verdrängt werden. Bei niedrigeren Temperaturen kann durch die schnellere Vermehrung anderer Mikroorganismen die Anzahl der Milchsäurebakterien im Anfang in den Hintergrund gedrängt werden. Wohl wird allmählich das Wachstum der übrigen Bakterien gehemmt, wodurch schließlich die Milchsäurebildner die Oberhand gewinnen, allein dann kann bei der Gerinnung die Anzahl dieser übrigen Bakterien schon so groß sein, daß sie einen nachteiligen Einfluß auf das Gerinnsel ausüben. Besonders der *Bacillus fluorescens liquefaciens*, der selbst auch die Milch sauer macht und bei beträchtlich hohem Säuregrad gut gedeihen kann, tritt bei der Gerinnung der Milch bei 15° C bereits sehr zahlreich auf.“

Zu unsern Untersuchungsergebnissen zurückkehrend, ist folgendes erwähnenswert: Während die frische Milch frei von Fluoreszenten befunden wurde, zeigten sich diese in bescheidener Menge in der benutzten Streu, so daß es für uns naheliegend ist, das Auftreten dieser Bakteriengruppe in den Versuchs-Milchproben speziell der Streuinfektion zuzuschreiben. Das Auftreten größerer Mengen solcher Bakterien ist insofern beachtenswert, als namentlich kühler aufbewahrte Milchproben, wie wir gesehen haben, eine Anreicherung der peptonisierenden Bakterien begünstigen, wodurch eine normale Säuerung der Milch in Frage gestellt wird.

Diesbezügliche Äußerungen finden wir auch in Lafars Handbuch der technischen Mykologie, wo sich hinsichtlich der Gefahr der Streuinfektion für Milch folgender Passus findet: „Schlechtes Streumaterial ist fast immer von Schimmelpilzen, sogenannten wilden Hefen, sowie von verflüssigenden oder die Milch peptonisierenden Bakterien bewohnt und diese an den Haaren der Kühe, sowie an den Hautfalten, namentlich der Zitzen anhaftend, gelangen in die Milch und rufen in dieser gewisse „Milchfehler“ hervor. Vor allem ist eine auf schlechte Streu zurückzuführende Erscheinung, daß Milch und Rahm weder spontan noch auch unter Zuhilfenahme von saurer Milch die für die Butterbereitung erwünschte Säuerung eingehen, sondern eine mit schlechtem, bitterem Geschmack und unangenehmem Geruch verbundene Auflösung erfahren, die den Butterungsprozeß vereitelt und sonstige mißliche Folgen hat.“

Das aus dem Dünger in die Milch versetzte *Bacterium prodigiosum* vermochte sich daselbst bei 18° C zu vermehren und war nach 48 Stunden in Probe VI f mit 7 Proz. an der Gesamtflora der Milch beteiligt. Dem langsamen Wachstum dieser Bakterienart Rechnung tragend, ließen wir die Milch noch 3 Tage stehen, worauf deutlich der als „Rote Milch“ bezeichnete Milchfehler sich bemerkbar machte.

## Serie 18.

## Einwirkung frischer Schwarzstreu auf frische Milch.

Die in dieser Serie zur Verwendung gelangende frische Milch 5 wurde zu je 100 ccm in 4 Erlenmeyerkölbchen verteilt, jedes dann mit  $\frac{1}{100}$  g von Schwarzstreuprobe No. 23 geimpft und je 2 Kölbchen zu 12° C bzw. 18° C gestellt. Durch die Impfung der frischen Milch, die pro ccm 71 000 Keime enthielt, mit  $\frac{1}{100}$  g Schwarzstreu wurden der Milch weitere Keime zugeführt, so daß 1 ccm der geimpften Milch zu Beginn der Versuche 71 180 Mikroben aufwies.

## Vorprüfung:

Bezeichnung der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VII a	12° C	24 Std.	3,2
VII b	12° C	7 Tage	12,5
VII c	18° C	24 Std.	3,8
VII d	18° C	5 Tage	9,5

Im makroskopischen Aussehen war bei Probe VII a nichts Abnormales zu bemerken; die Milch war flüssig.

Probe VII b zeigte unter der intakten Rahmdecke eine ca. 1 cm dicke Serumschicht; das Kasëin war gallertig-feinflockig ausgeschieden.

Probe VII c war unverändert.

Probe VII d wies eine zusammenhängende, rötlich gelbe Rahmdecke, die an 2 Orten schwach blasig emporgetrieben war, auf. Unter dem Rahm befand sich eine 2 mm breite Serumzone, während die übrige Flüssigkeit gallertig geronnen war; ein leichter Fäulnisgeruch der Milch war zu bemerken.

## Keimzahlen pro ccm Milch:

Bezeichnung der Probe	Gelatineplatten	Agarplatten	Milchzuckeragar hohe Schichten	Gesamtkeimzahl
VII a	140 000	130 000	40 000	173 000
VII b	1 500 000 000	1 000 000 000	500 000 000	2 250 000 000
VII c	40 000 000	73 000 000	25 000 000	75 000 000
VII d	730 000 000	730 000 000	67 000 000	130 000 000

Gegenüber der 24 Stunden alten Probe zeigte die Milch nach 7 Tagen bei der Aufbewahrungstemperatur von 12° C eine weitere Keimvermehrung um das rund 13 000 fache; nach 5 Tagen bei 18° C war entsprechend der hohen Keimzahl der 24 Stunden alten Probe VII c und der kürzeren Zeitdauer des Versuches nur noch ein Anwachsen der Keimzahl um das rund 1,73 fache zu konstatieren.

## Zusammenstellung der Bakterienarten.

Bakterienart	Streu No. 23 %	Frische Milch %	VII a %	VII b %	VII c %	VII d %
Kokken . . . . .	7	51	41	—	36	—
<i>Bacterium putidum</i> . . . . .	36	—	—	53	—	6
<i>B. punctatum</i> . . . . .	—	—	29	13	8	—
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	50	—	—	—	—	—
<i>B. prodigiosum</i> . . . . .	—	—	—	—	—	43
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	—	15	19	25	56	15
<i>B. acidi lactici</i> . . . . .	—	27	11	9	—	4
<i>B. coli</i> . . . . .	—	—	—	—	—	5
Kurzstäbchen (nicht näher studiert) .	—	4	—	—	—	—
Langstäbchen ( „ „ „ ) .	—	3	—	—	—	—
<i>Bacillus mycoides</i> . . . . .	3	—	—	—	—	4
<i>B. putrificus</i> . . . . .	—	—	—	—	—	23
Aktinomyceten . . . . .	4	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100

Diese Versuchsserie zeigt insofern eine gewisse Ähnlichkeit mit der vorhergehenden, als wiederum die tiefer gekühlten Proben in erheblicher Menge das aus der Streu eingeschleppte *Bacterium putidum* und wahrscheinlich auch *B. punctatum* zur Vermehrung anregten. Das dort Gesagte gilt auch hier.

In den mehrere Tage alten Proben erliegen die in den 24 Stunden alten Milchproben noch reichlich vorhandenen Kokken durchwegs der Konkurrenz anderer Arten. Daß in der längere Zeit aufbewahrten Milch die zuckervergärenden Milchsäurebakterien in größerer Menge vorkommen, ist leicht erklärlich. Besonderes Interesse erweckt die Zusammensetzung der Mikroflora in Probe VII d, da wir hier einen ganz eigenartigen Verlauf der Keimentwicklung konstatieren können. Im makroskopischen Aussehen der Probe konnte man deutlich den Fehler der sogenannten „Roten Milch“ bemerken, dessen Ursache in dem starken Auftreten des *Bacterium prodigiosum* zu suchen ist.

Während wir in Serie 17 die Bakterienart schon im Dünger und dann in der geimpften Milch angetroffen hatten, so fehlen uns diesmal genaue Anhaltspunkte darüber, ob nun die Streu oder die Milch den Schädling, der sich später in der Milch so üppig entwickelte, von Anfang an in so bescheidener Menge enthielt, daß ein Nachweis mit den zur Anwendung gekommenen Untersuchungsmethoden nicht möglich war.

Weiterhin ist bemerkenswert, wie bei der nicht unbedeutenden Säuerung dieser Milchprobe VII d selbst Fäulnispilze, wie *Bacillus putrificus*, in Wirksamkeit treten konnten, die durch Eiweißzersetzung der Milch den unangenehmen Geruch verliehen hatten.

Aus dem Ganzen ersehen wir, daß in diesem Falle die Säuerung der Milch durch die Milchsäurebakterien nur unvollkommen zustande kam und infolgedessen verschiedenen Schädlingen nicht bloß die Ansiedelung, sondern auch das kräftige Gedeihen in der Flüssigkeit ermöglicht wurde.

Weder in Serie 17 noch 18 kam das die Hälfte der Mikroflora der verwendeten Schwarzstreu ausmachende *Bacterium herbicola aureum* in frischer Milch zu nachweisbarer Entwicklung.

## Serie 19.

## Einwirkung frischer Schwarzstreu auf sterilisierte Milch.

Vier Erlenmeyerkölbchen mit je 100 ccm sterilisierter Milch beschickt, wurden am 27. April 1912 mit je  $\frac{1}{100}$  g Schwarzstreu von Probe 23 geimpft und nach 24 Stunden, bzw. nach erfolgter makroskopischer Veränderung der Probe, bakteriologisch geprüft. Aufbewahrungstemperaturen waren 12° C und 18° C.

Durch das Impfen mit Schwarzstreu No. 23 wurden der ursprünglich sterilen Milch pro ccm 180 Keime zugeführt.

## Untersuchungsergebnisse.

Bezeichnung der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VIII a	12° C	24 Std.	4,2
VIII b	12° C	11 Tage	8,8
VIII c	18° C	24 Std.	4,2
VIII d	18° C	8 Tage	11,7

## Makroskopisches Aussehen der Milchproben:

Probe VIII a war unverändert.

Bei Probe VIII b bildete der Rahm eine schmutzig gelbliche, zusammenhängende Decke, die mancherorts blasig aufgetrieben war. Darunter fand sich eine trübe, ca. 4 mm breite Serumzone.

Die übrige Flüssigkeit war unverändert.

Probe VIII c zeigte unverändertes Aussehen.

Probe VIII d. Rahmdecke war gelblich-grünlich gefärbt, stellenweise blasig emporgetrieben. Serumzone von 1—3 mm Mächtigkeit. Die übrige Milch war noch flüssig, scheinbar unverändert.

## Anzahl der Keime pro ccm Milch:

Bezeichnung der Probe	Gelatineplatten	Agarplatten	Milchzuckeragar hohe Schichten	Gesamtkeimzahl
VIII a	80	900	70	1 050
VIII b	890 000 000	850 000 000	50 000 000	1 120 000 000
VIII c	2 500	4 700	1 800	5 200
VIII d	1 480 000 000	1 250 000 000	1 050 000 000	1 630 000 000

## Übersicht der Keimarten.

Keimart	Streuprobe No. 23 %	VIII a %	VIII b %	VIII c %	VIII d %
Kokken . . . . .	7	—	—	4	—
Bacterium putidum . . . . .	36	—	—	12	—
B. fluorescens . . . . .	—	—	31	—	—
B. herbicola aureum . . . . .	50	85	6	77	6
B. Güntheri . . . . .	—	8	—	—	9
B. acidi lactici . . . . .	—	—	63	—	85
Bacillus mycoides . . . . .	3	—	—	—	—
B. putrificus . . . . .	—	7	—	—	—
Aktinomyceten . . . . .	4	—	—	7	—
	100	100	100	100	100

Aus vorstehender Tabelle ersehen wir, wie in den 24 Stunden alten Milchproben das *Bacterium herbicola* dominierend auftritt, somit in steriler Milch ganz gut wachsen kann. Der Mikroorganismus unterliegt aber leicht bei der Konkurrenz anderer Spaltpilze, denn in den mehrere Tage aufbewahrten Milchproben ist er prozentual nur noch spärlich feststellbar. In älteren Milchproben sind es namentlich Angehörige der *Bact. acidilactici*-Gruppe, die sich ausbreiten, die Milch säuern und Gas produzieren. Obwohl bei der Untersuchung der frischen Streu solche Bakterien nicht gefunden wurden, so müssen wir deren Vorkommen in Schwarzsau in kleiner, nicht nachweisbarer Menge voraussetzen. Aus diesen bescheidenen Anfängen hervorgehend, entwickelten sich, begünstigt durch das Nährmedium (sterile Milch), die gasbildenden Milchsäurebakterien sehr kräftig.

Zusammenfassung der wichtigsten Untersuchungsergebnisse des Abschnittes:

c) Einwirkung von frischer und benutzter Schwarzsau auf frische und sterilisierte Milch.

Auf die bei den einzelnen Serien gehaltenen Besprechungen hinweisend, wollen wir die hauptsächlichsten Untersuchungsergebnisse dieses Abschnittes folgendermaßen zusammenfassen:

1. Eine Impfung von 100 ccm frischer Handelsmilch mit  $\frac{1}{100}$  g frischer Schwarzsau vermochte auf den Gärverlauf der Milch keinerlei Einfluß auszuüben, gleichgültig, ob die Aufbewahrungstemperatur der Milchprobe 12° C oder 18° C betrug. Die Ursache dieser Erscheinung ist wohl in dem ursprünglich hohen Gehalte der ungeimpften, frischen Milch an *Bacterium Güntheri*, das ein Aufkommen von schädlichen Keimen vollständig unterdrücken konnte, zu suchen.

Eine keimarme Milch, mit  $\frac{1}{100}$  g frischer Schwarzsau geimpft, zeigte ein weniger erfreuliches Bild, indem bei einer Aufbewahrungstemperatur von 12° C einige mit der Streu in die Milch eingeführte Keime, nämlich *Bacterium putidum* und *Bact. punctatum*, daselbst zur Entwicklung kamen, indessen bei einer Aufbewahrungstemperatur von 18° C außer dem *Bacterium Güntheri* und den gasbildenden Milchsäurebakterien noch Kokken, sowie *Bacterium prodigiosum* und anaerobe Fäulnisbakterien zu gedeihen vermochten.

2. Von den mit frischer Schwarzsau in die sterilisierte Milch eingebrachten Keimarten entwickelten sich in der Nährflüssigkeit am besten *Bact. herbicola* Burri et Düggeli und *Bact. fluorescens* (Flügge) L. et N., wobei letztere Art im allgemeinen einer Aufbewahrungstemperatur der Milch bei 12° C, gegenüber 18° C, den Vorzug gibt. Außer den genannten Spaltpilzen kommen noch das *Bacterium acidilactici* und der *Bacillus subtilis* vor; der letztere Organismus speziell bei einer Aufbewahrungstemperatur der Milch von 18° C.

3. In frischer Milch, die mit benutzter Schwarzsau geimpft wurde ( $\frac{1}{100}$  g auf 100 ccm Milch), entwickelten sich in erster Linie das *Bacterium Güntheri*, daneben auch *Bacterium acidilactici* und Kokken. Wird die Milch bei 12° C aufbewahrt, so gedeiht gewöhnlich das *Bacterium fluorescens* recht gut, so daß es unter Umständen imstande ist, den Gärverlauf der Milch ungünstig zu beeinflussen. Dieses Vorherrschen des *Bacterium fluorescens* ist bei einer Aufbewahrungstemperatur der Milch von 18° C bedeutend weniger zu befürchten.

Das mit benutzter Streu in ansehnlicher Zahl in die Milch gebrachte *Bacterium prodigiosum* vermochte sich in derselben bei 18° kräftig zu entwickeln und eine rote Verfärbung der Rahmzone bei längerer Aufbewahrung zu bedingen.

4. Als dominierende Bakterienarten kommen in den mit benutzter Schwarzstreu geimpften sterilisierten Milchproben Kokken, *Bacterium Güntheri* und *Bact. acidilactici* zur Entwicklung. Je nach der Aufbewahrungstemperatur (12° C und 18° C) und der Gärzeit der Milch (12, 24 bzw. 48 Stunden), war bald die eine, bald die andere der genannten Keimarten vorherrschend. Eine bei 12° C während 12 Stunden aufbewahrte Milchprobe enthielt neben Kokken noch beträchtliche Mengen an Aktinomyeten und Sproßpilzen.

5. Eine bei 18° C während 12, 24 bzw. 48 Stunden aufbewahrte, benutzte Schwarzstreu erfuhr eine beträchtliche Keimvermehrung, die in einem Falle gleich zu Anfang einsetzte, während im anderen Falle nach 12 stündiger Gärzeit vorerst eine Keimverminderung stattfand, der aber ein beträchtliches Anschwellen der Keimzahl auf dem Fuße folgte. Die vorherrschenden Keimarten der Mikroflora benutzter, aufbewahrter Schwarzstreu waren: Kokken, *Bacterium Güntheri* und *Bact. acidilactici*.

#### D. Die Untersuchung einzelner Riedstreuproben.

Die zur Untersuchung gelangten 4 Riedstreuproben stammten alle aus der Gegend des Murtensees und wurden uns sofort nach dem Schnitte in frisch gedörrtem Zustande, im November 1910, zugesandt.

Sofort nach der Ankunft im Laboratorium wurde das Material verarbeitet.

##### Riedstreuprobe No. 1.

Sie bestand aus einem Gemenge von *Eriophorum angustifolium*, *E. latifolium* und *Carex*arten.

Die Zahl der Keime betrug pro g:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	7 500 000
Auf den Agarplatten . . . . .	7 700 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . .	3 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	13 900 000.

Der Bestand der Keimarten war folgender:

<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	=	22 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	=	14 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	=	11 %
Kokken . . . . .	=	7 %
<i>Bacterium punctatum</i> . . . . .	=	7 %
Gelbe, im Wasser oft anzutreffende Kurzstäbchen	=	7 %
Rote, „ „ „ „ „ „	=	7 %
Unbekanntes Langstäbchen . . . . .	=	7 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	=	5 %
Sproßpilze . . . . .	=	4 %
<i>Bacterium herbicola aureum</i> . . . . .	=	4 %
Aktinomyeten . . . . .	=	3 %
Buttersäurebazillen, beweglich . . . . .	=	2 %
		100 %.

##### Riedstreuprobe No. 2.

Die Hauptmasse der Probe bildeten die langen, schwertförmigen Blätter der Sumpfschwertlilie (*Iris pseudacorus* L.), beigemengt waren Blätter der Liliensimse (*Tofieldia calyculata* (L.) Wahlenb.).



Untersucht am 8. November 1910. Befund:

Keimzahlen pro g:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	10 400 000
Auf den Agarplatten . . . . .	3 400 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . . . . .	2 400 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	13 600 000.

Keimarten:

<i>Bacterium punctatum</i> . . . . .	= 56 %
<i>B. coli</i> . . . . .	= 18 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	= 8 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	= 5 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	= 4 %
Kokken . . . . .	= 4 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	= 3 %
<i>Bacterium putidum</i> . . . . .	= 2 %
Sproßpilze, vereinzelt . . . . .	= +
	100 %.

### Riedstreuprobe No. 3.

Diese Probe war sogenannte „Röhrlistreue“, bestehend aus Stengeln und Blättern von *Phragmites communis* L., dem Schilfrohr.

Quantitative Zusammensetzung: 8. November 1910.

Auf den Gelatineplatten . . . . .	11 000 000	Keime pro g
Auf den Agarplatten . . . . .	9 000 000	„ „ „
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . . . . .	500 000	„ „ „
Gesamtkeimzahl . . . . .	14 900 000	„ „ „

Qualitative Zusammensetzung:

Kurzstäbchen in farblosen Kolonien, wie wir sie auch öfters bei bakteriologischen Wasseruntersuchungen antrafen . . . . .	= 27 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	= 21 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	= 13 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	= 10 %
Schimmelpilze . . . . .	= 9 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	= 8 %
Sproßpilze . . . . .	= 7 %
Kokken . . . . .	= 3 %
Aktinomyceten . . . . .	= 2 %
	100 %.

### Riedstreuprobe No. 4.

Sie bestand aus Stengeln und Blättern der See-Flechtbinse (*Schoenoplectus lacustris* (L.) Palla).

Untersucht am 9. November 1910. Befund:

Keimmenge pro g

Auf den Gelatineplatten . . . . .	11 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	45 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . . . . .	2 600 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	49 100 000

Keimarten:

Orange Kolonien bildende Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	= 41 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	= 31 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	= 18 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	= 5 %
Schimmelpilze . . . . .	= 2 %
Aktinomyceten . . . . .	= 2 %
<i>Bacterium putidum</i> . . . . .	= 1 %
Sproßpilze . . . . .	= 1 %
	100 %.

Betrachten wir die bakteriologischen Befunde der Riedstreuproben im Zusammenhange, so können wir hinsichtlich Keimzahlen bei den ersten 3 Proben ungefähr gleiche Mengen, d. h. 13—15 Mill. Keime pro Gramm, bei der letzten dagegen 49 Mill. Mikroorganismen pro Gramm beobachten. Diese hohen Keimzahlen lassen sich einerseits durch den dem Bakterienwachstum günstigen, relativ hohen Feuchtigkeitsgehalt des Materials und andererseits durch das geringe Alter der untersuchten Streuproben erklären. Mit diesen Momenten im Zusammenhang steht wohl auch die große Mannigfaltigkeit der vorgefundenen Keimarten.

Allen Proben gemeinsam sind einige psychrophile, peptonisierende Arten (*Bacterium fluorescens*, *Bact. punctatum*), die in fließendem und stagnierendem Wasser häufig zu finden sind. Da in ruhendem oder langsam fließendem Wasser öfters Pflanzenreste und Tierexkreme der Zersetzung anheimfallen, so wundert es uns nicht, wenn nicht bloß peptonisierende Spaltpilze, sondern auch *Bacterium coli*, *Bact. acidilactici* und ihre Verwandten an solchen Orten vorkommen und dann die von diesen Örtlichkeiten stammenden Streumaterialien damit infiziert sind. Neben dieser Gruppe der gasbildenden Milchsäurebakterien trafen wir auf Riedstreu auch harmlose, auf den Platten von Heyden agar oft farbenprächtige Kolonien bildende Wasserbakterien. Zweimal trafen wir ein der Coli gruppe nahestehendes, nicht gasbildendes Kurzstäbchen.

Die von uns beschriebenen ab Stroh isolierten, auf Agarplatten orange-rote Kolonien bildenden Kurzstäbchen bewohnten gleichzeitig mit dem Kartoffelbazillus in größeren Mengen die Blätter der Seebinsen von Probe 4.

Außer den erwähnten Arten konnten, allerdings in prozentual geringeren Mengen, noch nachgewiesen werden: Kokken, *Bacterium herbicola aureum*, bewegliche Buttersäurebazillen, Aktinomyceten, Sproßpilze und Schimmelpilze.

### 3. Untersuchungen an Laub.

#### A. Einleitende Gedanken und bisherige Forschungsergebnisse.

In vielen streuarmlen Gebirgstälern der Schweiz wird mit Vorliebe das im Walde gesammelte dürre Laub zum Einstreuen benutzt. Diese Streu bezeichnet man als „Waldstreu“, zu der außer dem Laub, auch abgefallene Nadeln, Tannenzweige, Moose und andere im Walde vorkommende Pflanzen und Pflanzenteile gerechnet werden. Von diesen Streumitteln ist das Laub das weitaus am meisten geschätzte und verbreitete.

Der landwirtschaftliche Wert der Streusorten richtet sich nach ihrer Aufsaugungskraft, für welche Ebermayer (23) folgende Zahlen eruiert hat:

1 cbm Streu absorbiert folgende Wasserquantitäten:

Moosstreu . . . . .	279,5 kg
Fichtennadelstreu . . . . .	247,8 „
Roggenstroh . . . . .	203,3 „
Buchenlaubstreu . . . . .	176,7 „
Kiefernadelstreu . . . . .	160,0 „
Farnkraut . . . . .	153,8 „
Heidestreu . . . . .	78,8 „

Die Zahlen beziehen sich auf lufttrockenes, gepreßtes Material.

Die Angaben des nämlichen Autors über den Düngewert obiger Streusorten lauten:

1000 Gewichtsteile Streu enthalten im Mittel:

	Wasser Teile	Organische Substanz Teile	Stick- stoff Teile	Phosphor- säure Teile	Kali Teile
Buchenlaubstreu . . . . .	140	712	8,0	2,7	2,5
Fichtennadelstreu . . . . .	126	834	8,0	1,9	1,4
Kiefernadelstreu . . . . .	120	867	5,0	1,1	1,3
Weißtannenstreu . . . . .	128	815	7,5	2,4	2,1
Lärchennadelstreu . . . . .	137	820	?	1,3	0,7
Moos . . . . .	250	731	1,0	0,9	2,6

Der daraus berechnete Düngewert der Streu beläuft sich pro 100 kg bei

Buchenlaubstreu auf .	Frs. 1,30
Fichtennadelstreu „ .	Frs. 1,24
Kiefernadelstreu „ .	Frs. 0,78
Weißtannenstreu „ .	Frs. 1,21
Moos „ .	Frs. 0,25

Der Mikroflora von Laub haben Burri (14), Beijerinck (10) und Molisch (63), letzterer in seinen Studien über die Selbsterhitzung aufgehäufte, lebende Blätter, ihre Aufmerksamkeit geschenkt. König (48) beschreibt Mycelpilze aus Waldhumus, von Blättern der Eichen, Buchen, Kiefern und der Waldluft. Andere Forscher, wie Neßler, Henry, Süchting, Montemartini, Hornberger, Burri und Dügeli haben im Zusammenhange mit der „Stickstofffrage“, zahlreiche Laubuntersuchungen durchgeführt und dabei nachgewiesen, daß altes, abgestorbenes Laub für stickstoffbindende Bakterien eine willkommene Unterlage ist, indessen auf frischen, staubfreien Blättern nach den Angaben von Hornberger (45) solche Organismen fehlen. Krawkow (54) berichtet über die bei der Zersetzung des Laubes tätigen Mikroorganismen, sowie über den dabei zu Tage tretenden Löslichkeitsgrad der in den Blättern enthaltenen Mineralsubstanzen.

## B. Die Untersuchung einzelner Laubproben.

### Laubprobe No. 1.

Im November 1910 sammelte ich im Walde auf der Höhe des Zürichberges bei Zürich trockenes Buchenlaub, das sorgfältig in einen sterilisierten Papiersack verpackt, nach einmonatlicher Aufbewahrung zur Verarbeitung gelangte.

In gleicher Weise wie bei den Stroh- und Schwarzstreuproben wurde auch hier die Untersuchung durchgeführt und als Kulturarten gelangten wiederum Gelatine- und Agarplatten, sowie Milchzuckeragar hohe Schichtkulturen zur Verwendung.

Befund. Zahl der Keime pro g:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	35 000
„ den Agarplatten . . . . .	66 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten .	2 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	82 000.

6\*

## Keimarten:

Kurzstäbchen, in orangeroten Kolonien wachsend .	18 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	15 %
<i>B. megatherium</i> . . . . .	12 %
Unbekannte Kurzstäbchen . . . . .	12 %
Schimmelpilze . . . . .	12 %
Sproßpilze . . . . .	10 %
Aktinomyceten . . . . .	7 %
<i>Bacillus mycoides</i> . . . . .	6 %
Langstäbchen, unbekannt . . . . .	5 %
Kokken . . . . .	3 %
	<hr/>
	100 %

Wenn auch die Anzahl der Keime pro g untersuchten Laubes nicht gerade eine sonderlich hohe ist, so treffen wir doch eine stattliche Artenzahl. Das in orangeroten Kolonien wachsende Kurzstäbchen gehörte dem von mir aus Stroh isolierten und p. 11 ausführlich beschriebenen Typus an. Die vorhandenen „Sporenbildner“, nämlich *Bac. mesentericus*, *Bac. megatherium* und *Bac. mycoides*, ferner die Aktinomyceten und Sproßpilze, sowie die Schimmelpilze, konnten sehr leicht beim Lagern des abgefallenen Laubes auf dem Waldboden vom letzteren auf die Blätter übergehen und daselbst weiter gedeihen. Die erwähnten Spezies treffen wir nämlich meistens bei Bodenuntersuchungen an, während Laub, das, direkt vom Baume genommen, der bakteriologischen Prüfung unterzogen wird, selten Sporenbildner nachweisen läßt. Einige diesbezügliche Spezialuntersuchungen meinerseits, auf die wir hier nicht näher eingehen können, haben dies erwiesen. Den Verhältnissen in der Praxis, wo ja meistens abgefallenes, zusammengesammeltes Laub zur Einstreu benutzt wird, Rechnung tragend, haben wir für unsere Probeentnahme jeweils auch nur abgefallene Blätter verwendet. Daß sich dabei die Verunreinigung durch Erde in mehr oder weniger starkem Maße geltend machen kann, lehren sowohl dieses Beispiel, wie auch spätere Befunde.

## Laubprobe No. 2.

Sie wurde in einem Wäldchen in der Nähe von Saignelégier im Berner Jura (800 m über Meer) entnommen. Die Probe bestand vorwiegend aus Eichenblättern, die ein schmutziges, braunschwarzes Aussehen besaßen, dürr und trocken waren, und einen muffigen Geruch aufwiesen.

Datum der Untersuchung 16. November 1910.

## Zahl der Keime pro g:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	150 000
„ „ Agarplatten . . . . .	100 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten .	6 500 000

Die Gesamtkeimzahl von 6 740 000 pro g verteilte sich auf folgende Arten:

Kokken . . . . .	52 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	45 %
<i>Bacillus mycoides</i> , <i>B. megatherium</i> , Schimmelpilze, Sproßpilze und <i>Bacterium coli</i> . . . . .	3 %
	<hr/>
	100 %

Die Kokken, die wir zur Hauptsache in der hohen Schicht-Kultur antrafen, repräsentierten sich im mikroskopischen Bilde als typische Diplokokken, die je zu zwei und zwei in einer heller leuchtenden Schleimschicht, herrührend von Membranverquellungen, eingebettet waren. Auf den künstlichen Nähr-

böden gingen sie nach kurzer Zeit zugrunde. Ebenso erging es den ab den Blättern isolierten Kurzstäbchen, die gleichfalls nur eine kurze Lebensdauer aufwiesen. Keine der beiden Arten zeigte, in Milch verbracht, irgendwelche Vermehrung.

### Laubprobe No. 3.

Sie bestand aus trockenen, dünnen, keine Erdverunreinigung zeigenden, absolut sauberen Buchenblättern, die von mir bei Erlenbach im Simmental, Kanton Bern, gesammelt worden waren. 5 Monate nach der Probenentnahme wurde am 18. November 1910 die bakteriologische Untersuchung durchgeführt.

#### Befund. Keimzahlen pro g:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	850 000 Keime
„ den Agarplatten . . . . .	1 500 000 „
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . .	2 000 „
Gesamtkeimzahl . . . . .	1 520 000 „

#### Zusammensetzung der Mikroflora:

Gelber Säurebildner . . . . .	52 %
Schimmelpilze . . . . .	46 %
Kokken . . . . .	2 %
	<hr/> 100 %.

Der auf Pflanzenteilen öfters zu treffende Gelbe Säurebildner von Levy kam hier in ausgesprochenen Involutionsformen vor. Offenbar hatte diesen Bakterien der längere Zeit andauernde Austrocknungsprozeß der Blätter, hervorgerufen durch die Aufbewahrung im Laboratorium, etwas zugesetzt. Die Schimmelpilze, denen wir in Laubproben ziemlich häufig begegneten, waren hier durch *Penicillium glaucum* vertreten. Die schmutzig weiße Kolonien bildenden Mikrokokken hatten einen Durchmesser von 1  $\mu$ . Ihrer geringen Zahl wegen wurden sie nicht weiter studiert.

### Laubprobe No. 4.

**Aussehen:** Ziemlich stark verschimmeltes, dunkelbraun verfärbtes Buchenlaub.

**Herkunft:** Paßhöhe des Brünigs (1035 m ü. M.), Kt. Unterwalden.

**Datum der Untersuchung:** 18. November 1910.

Gefunden wurden:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	35 000 Keime pro g
„ „ Agarplatten . . . . .	6 000 „ „ „
In den hohen Schichten . . . . .	20 000 „ „ „
Gesamtkeimzahl . . . . .	51 000 „ „ „

mit folgender Zusammensetzung:

Schimmelpilze . . . . .	50 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	20 %
Kokken . . . . .	13 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . .	9 %
Sproßpilze . . . . .	3 %
Aktinomyeten . . . . .	2 %
Kurzstäbchen . . . . .	2 %
<i>Bacillus mycoides</i> . . . . .	1 %
	<hr/> 100 %.

Vom molkereitechnischen Standpunkte aus wird eine dermaßen mikrobiologisch zusammengesetzte Streu, abgesehen von der hohen Zahl an Schimmelpilzen, deshalb nicht als Einstreumaterial empfehlenswert sein, weil  $\frac{1}{8}$  sämtlicher Bakterien der in Käsereibetrieben so gefürchteten Gruppe des

*Bacterium coli* angehört. Eine Verschleppung dieser Mikrobe von der Streu in die Milch ist ja nicht immer mit Sicherheit anzunehmen, liegt jedoch leicht im Bereiche der Möglichkeit. Eine solche, bakteriologisch ungünstig zusammengesetzte Streu kann bei ihrer Verwendung die Ursache gewisser Milchfehler sein, muß es aber deshalb nicht immer werden, weil zum Zustandekommen von fehlerhafter Milchbeschaffenheit meistens das Zusammenwirken mehrerer Faktoren (einmal schlechte Streu, dann ungünstige bakteriologische Zusammensetzung der Milch, beispielsweise Armut an typischen Milchsäurebildnern, ferner bestimmte Aufbewahrungstemperatur der Milch usw.) notwendig ist, wie die von uns angestellten, kombinierten Versuche von Streu mit frischer Milch erwiesen haben. Ungeachtet dieser Erwägung, wollten wir es nicht unterlassen, jeweils bei der Besprechung der Mikroflora einzelner Streuprobe, gleich welcher Art, auf die den Molkereibetrieb speziell gefährdenden Bakterien, sofern sie eben bei den einzelnen Untersuchungen in größerer Menge zutage traten, aufmerksam zu machen.

So schenken wir beispielsweise in dieser Probe den Sproßpilzen, Aktinomyeten, Kurzstäbchen und Kokken weiter keine Beachtung, heben jedoch die anwesenden Sporenbildner *Bacillus mesentericus* und *B. mycoides* noch hervor, da diese, wie in einem früheren Kapitel schon erwähnt wurde, namentlich der zur Pasteurisation zu verwendenden Milch schädlich werden können.

#### Laubprobe No. 5.

Diese Probe bestand aus frisch gefallenem dürrn Blättern verschiedener Bäume, entnommen aus dem Garten der Landwirtschaftlichen Abteilung der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich. Sofort nach der Probeentnahme erfolgte am 21. November 1910 die bakteriologische Untersuchung.

##### Befund. Keimzahlen pro g:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	35 000 000
„ „ Agarplatten . . . . .	9 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten .	1 000 000

Die Gesamtzahl von 36 900 000 Keimen pro g verteilte sich auf folgende Arten:

<i>Bacterium putidum</i> . . . . .	54 %
Sproßpilze . . . . .	19 %
Kurzstäbchen, unbekannt . . . . .	13 %
Langstäbchen, unbekannt . . . . .	8 %
Gelber Säurebildner . . . . .	3 %
Schimmelpilze . . . . .	2 %
Kokken . . . . .	1 %
	<hr/>
	100 %.

Dem noch frischen Zustande der Blätter dieser Probe wird die hohe Gesamtkeimzahl und der reichliche Nachweis des *Bacterium putidum* zuzuschreiben sein. Diese Art ist übrigens auf Pflanzenteilen keine Seltenheit, wie wir noch des öfteren sehen werden. Die uns unbekannten Kurz- und Langstäbchen prüften wir auf ihr Wachstum in steriler Milch, kamen aber zu negativem Resultate und verfolgten sie daher nicht weiter. Harmlos sind auch die übrigen hier gefundenen Mikroben.

#### Laubprobe No. 6.

Sie bestand aus trockenen Nußbaumblättern, wurde uns von Cham, Kanton Zug, Ende Oktober 1910 eingesandt und gelangte am 25. November 1910 zur Verarbeitung.

**Zahl der gefundenen Keime pro g:**

Auf den Gelatineplatten . . . . .	5 000 000
„ „ Agarplatten . . . . .	5 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . .	1 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	8 500 000

**Keimarten:**

<i>Bacterium herbicola</i> . . . . .	30 %
<i>B. putidum</i> . . . . .	21 %
Kurzstäbchen . . . . .	17 %
Schimmelpilze . . . . .	13 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	12 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	7 %
	<hr/> 100 %

Speziell interessiert uns hier nur das Vorkommen des *Bacterium acidilactici*, dessen Gasbildungsvermögen in den hohen Schichten vorerst nicht nachweisbar war, sich jedoch nach mehrmaligem Überimpfen dieses Stammes regenerierte und auch das Wachstum auf verschiedenen Nährböden allmählig wieder typischer wurde, als dies anfänglich der Fall war.

**Laubprobe No. 7.**

Frisches Laub der Roßkastanie von Murten, Kt. Freiburg.

Datum der Untersuchung: 26. November 1910.

Es entwickelten sich:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	25 000 000 Keime pro g
Auf den Agarplatten . . . . .	20 000 000 „ „ „
In den Milchzuckeragar hohen Schichten .	15 000 000 „ „ „

Die Gesamtzahl betrug 47 000 000 Keime pro g; davon waren:

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	32 %
Stäbchen a. . . . .	32 %
Stäbchen b . . . . .	21 %
<i>Bacterium herbicola</i> . . . . .	10 %
Gelber Säurebildner . . . . .	5 %
	<hr/> 100 %

Das *Bacterium Güntheri* zeigte stark an Streptokokken erinnernde Formen, bei denen man die Kurzstäbchennatur nicht vermutete. Die als Stäbchen a bezeichnete Bakterienart wies auf den Gelatineplatten graulich schimmernde, durchscheinende, im Innern sogenannte Schollenstruktur zeigende Kolonien auf. Wir studierten sie hinsichtlich ihres morphologischen und physiologischen Verhaltens auf verschiedenen Nährböden und kamen zum Schlusse, daß es sich um eine mit *Bact. coli* verwandte, in die Gruppe des Gelben Säurebildners von Levy gehörende Art handelte, die wir auch schon bei Bodenuntersuchungen getroffen hatten. Stäbchen b zeigte ähnliches Verhalten, doch war bei den Kolonien auf den Gelatineplatten eine deutliche Färbung ins Gelbliche wahrnehmbar. Die Kultur in steriler Milch ergab für beide Arten (Stäbchen a und b) schwache Peptonisierung des Kaseins der Milch, dagegen keine Gasproduktion.

**Laubprobe No. 8.**

Frisches Eichenlaub von Murten, Kt. Freiburg.

Datum der Untersuchung: 30. November 1910.

**Befund.** Keimzahlen pro g:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	30 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	35 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten .	7 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	53 000 000.

**Keimarten:**

Langstäbchen . . . . .	38 %
Bacterium Güntheri . . . . .	38 %
Kurzstäbchen . . . . .	9 %
Bacterium fluorescens . . . . .	5 %
Bacillus mycoides . . . . .	4 %
Aktinomyeten . . . . .	4 %
Schimmelpilze . . . . .	2 %
	<hr/> 100 %.

Die gefundenen Langstäbchen machten ganz den Eindruck von Involutionenformen des *Bacillus megatherium*; beim Weiterimpfen gingen sie zugrunde.

Das in vorliegendem Falle seine Kurzstäbchennatur nicht verleugnende *Bact. Güntheri* war insofern von speziellem Interesse, als wir eine stark fadenziehende Rasse, die speziell in Milch verbracht, diese Eigenschaft dokumentierte, vorfanden. Da dem *Bact. Güntheri* in frischer Milch meistens sehr gute Wachstumsbedingungen geboten werden, so wäre eine Infektion mit Partikelchen dieser Laubstreu wohl geeignet, eine fehlerhafte Beschaffenheit der sonst normalen Milch zu bedingen.

**Laubprobe No. 9.**

Frisches Buchenlaub von Murten, Kt. Freiburg.

Datum der Untersuchung: 2. Dezember 1910.

Befund. Keimzahlen pro g:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	30 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	35 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . . . . .	7 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	40 000 000.

**Keimarten:**

Bacterium fluorescens . . . . .	76 %
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	12 %
Bacterium Güntheri . . . . .	12 %
	<hr/> 100 %.

Dreiviertel aller Keime entfallen hier auf die bei der Untersuchung frischer, noch einen großen Prozentsatz Feuchtigkeit enthaltenden Laubproben stets anzutreffenden „Fluorescenten“, die sich in dieser Probe speziell durch intensive Farbstoffproduktion auf den Nährböden auszeichneten. Die stark involvierten Langstäbchen verfolgten wir nicht weiter; beim *Bact. Güntheri* war in der hohen Schicht-Kultur nur spärliche Säureproduktion nachzuweisen.

**Laubprobe No. 10.**

Frisches Platanenlaub von Murten, Kt. Freiburg.

Untersucht am 8. Dezember 1910.

Befund. Keimzahlen pro g:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	53 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	54 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . . . . .	10 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	90 000 000.

**Keimarten:**

Bacterium fluorescens . . . . .	45 %
Stäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	22 %
Bacterium herbicola . . . . .	17 %
Gelber Säurebildner . . . . .	7 %
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	4 %
Bacterium coli . . . . .	3 %
Schimmelpilze . . . . .	2 %
	<hr/> 100 %.



Ein Großteil der Keime gehört wiederum zum *Bacterium fluorescens*; daneben macht sich ein zur *Bacillus subtilis*-Gruppe gehörendes Stäbchen breit. Die uns bekannten Bewohner grüner Pflanzenteile *Bacterium herbicola* und Gelber Säurebildner treten in dieser Probe stärker in den Vordergrund. Neben einigen uns unbekannten Langstäbchen und Schimmelpilzen, letztere mit schönen rosarot gefärbten Mycelien, beschließt als einziger Gasbildner das *Bacterium coli* die Reihe der entdeckten Mikroben.

## Laubprobe No. 11.

Frisches Eichenlaub von Murten, Kt. Freiburg.

Untersucht am 16. Dezember 1910.

Befund. Keimzahlen pro g:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	4 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	3 800 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . .	3 100 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	4 700 000.

Keimarten:

Stäbchen a . . . . .	70 %
Schimmelpilze . . . . .	9 %
Stäbchen b . . . . .	7 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	4 %
Sproßpilze . . . . .	4 %
<i>Bacillus subtilis</i> . . . . .	4 %
<i>B. mesentericus</i> . . . . .	2 %
	<hr/>
	100 %.

Die unter der Bezeichnung Stäbchen a und b aufgeführten Bakterien waren mit den bei Laubprobe No. 7 unter diesem Namen erwähnten Spaltpilzen identisch, weshalb wir an dieser Stelle auf das dort Gesagte verweisen.

Von gefürchteten Schädlingen für Molkereibetriebe haben wir in dieser Probe keinen einzigen in nennenswerter Menge vorgefunden.

## Laubprobe No. 12.

Frisches Ulmenlaub von Murten, Kt. Freiburg.

Untersucht am 10. Dezember 1910.

Befund. Keimzahlen pro g:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	60 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	53 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten .	20 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	61 000 000.

Keimarten:

Kokken . . . . .	90 %
<i>Bacterium herbicola</i> . . . . .	8 %
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . .	2 %
	<hr/>
	100 %.

Der hohen Keimzahl steht eine auffallende Artenarmut gegenüber; sind doch fast alles Mikrokokken aus der Verwandtschaft des *Micrococcus candidans* Flüge, eines in der Luft allgemein verbreiteten Spaltpilzes, die in diesem Laube Verbreitung gefunden haben.

## Laubprobe No. 13.

Frisches Ahornlaub von Murten, Kt. Freiburg.

Untersucht am 10. Dezember 1910.

**Befund. Keimzahlen pro g:**

Auf den Gelatineplatten . . . . .	45 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	40 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten .	4 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	49 000 000.

**Keimarten:**

Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . .	33 %
<i>Bacterium herbicola</i> . . . . .	21 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	18 %
Aktinomycceten . . . . .	10 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	8 %
Kokken . . . . .	6 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	4 %
	<hr/> 100 %.

Die Prüfung der morphologischen und physiologischen Eigenschaften der Kurzstäbchen ergab deren Zugehörigkeit zur Gruppe des Gelben Säurebildners von Levy, ohne dessen ausgesprochene gelbe Färbung der Kolonien zu besitzen; doch schien der Organismus auch in naher Verwandtschaft mit dem *Bact. herbicola* zu stehen, da mancherorts schwache Zoogloenbildung nachweisbar war. Das *Bact. herbicola* war daneben in typischen Formen vertreten. Im Vereine mit Fluorescenten, Aktinomycceten und Kokken vervollständigten noch Milchsäurebakterien vom Typus des *Bact. acidilactici* das Bild der Mikroflora dieser Probe.

**Laubprobe No. 14.**

Diese letzte der 8 von Herrn Direktor Lutz von Murten übersandten Laubproben bestand aus frisch gefallenem Lindenlaube, das am 16. Dezember 1910 auf Platten und hohe Schicht-Kulturen verarbeitet wurde.

**Befund. Keimzahlen pro g:**

Auf den Gelatineplatten . . . . .	300 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	180 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten .	4 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	370 000 000.

**Keimarten:**

Stäbchen-Spezies . . . . .	73 %
Aktinomycceten . . . . .	16 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	11 %
	<hr/> 100 %.

Das Stäbchen, ein Sporenbildner aus der Verwandtschaft des *Bacillus subtilis*, war stark vorherrschend, einige Fluorescenten, sowie Aktinomycceten der Spezies *Actinomyces chromogenes*  $\beta$  *albus*, repräsentierten die wenigen, auf dem Lindenlaube gefundenen Arten. Auffallend ist die überaus hohe Keimzahl dieser Probe.

**Laubprobe No. 15.**

Sie bestand aus einer Mischung von Buchen-, Eschen- und Erlenlaub. Alles waren abgefallene, feuchte Blätter, wovon ein Teil bereits Zeichen beginnender Zersetzung zeigte.

Auf den Höhen des Ütliberges bei Zürich geholt, wurde die Probe am gleichen Tage, 16. Dezember 1910, noch untersucht.

**Befund. Keimzahlen pro g:**

Auf den Gelatineplatten . . . . .	35 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	15 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten .	17 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	48 000 000.

**Keimarten:**

<i>Bacterium punctatum</i> . . . . .	42 %
Kokken . . . . .	21 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	21 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	10 %
<i>B. coli</i> . . . . .	6 %
	<hr/>
	100 %.

Aus der Untersuchung dieser Probe ergibt sich wiederum deutlich, wie die Blätter einer im Walde liegenden, feuchten Laubdecke öfters reichlich peptonisierende Bakterien, so *Bacterium punctatum* und *Bact. fluorescens*, beherbergen. Diesen zur Seite stehend helfen *Bact. Güntheri*, Kokken und *Coli*-Bakterien mit, den Abbauprozess an den abgestorbenen Pflanzenteilen durchzuführen.

Auf die Gefahr, die eine stark mit Fluorescenten besetzte Streu bei ihrer Verwendung für Molkereibetriebe bilden kann, haben wir in unserem Versuche, das Impfen von Milch mit Schwarzstreu betreffend, auf p. 76 hingewiesen.

**Laubprobe No. 16.**

Als ganz frisch abgefallenes Laub verschiedener Baumarten in einem Walde bei Oerlikon, Kt. Zürich, geholt, kam diese Probe nach 8-tägiger, bei Zimmertemperatur erfolgter Aufbewahrung in keimfreiem Glaszylinder am 18. November 1911 zur bakteriologischen Untersuchung.

**Befund. Keimzahlen pro g:**

Auf den Gelatineplatten . . . . .	115 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	110 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten .	40 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	115 000 000.

**Keimarten:**

<i>Bacterium coli</i> . . . . .	44 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	17 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	17 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	13 %
Unbekannte Arten . . . . .	9 %
	<hr/>
	100 %.

Da über die Hälfte der nachgewiesenen zahlreichen Mikroben dem uns wohl bekannten *Bact. coli* und dem *Bact. acidilactici*, also zwei gefürchteten Gasbildnern, angehörten, mußte diese Streu vom molkereitechnischen Gesichtspunkte aus als besonders schlecht qualifiziert werden, was uns bewog, damit die 1. Serienreihe der kombinierten Versuche, die Impfung von frischer und steriler Milch mit Laub betreffend, durchzuführen, um auf die Art und Weise die Frage zu prüfen, inwiefern schlechtes Einstreumaterial die Milch zu beeinflussen vermag.

**Laubprobe No. 17.**

Es handelte sich bei dieser Probe um ein Laubgemisch, das zu Dreivierteln aus Buchenblättern bestand, während der Rest aus Eichen-, Platanen- und Birkenblättern zusammengesetzt war. Das Material war feucht und durch Bodenpartikel verunreinigt.

In der Umgebung Zürichs am 6. Dezember 1911 gesammelt, wurde gleichen Tages noch die Untersuchung des Materials eingeleitet.

**Befund. Keimzahlen pro g:**

Auf den Gelatineplatten . . . . .	57 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	53 000 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten .	4 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	64 000 000.

## Keimarten:

Fluoreszenten . . . . .	34 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	19 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	19 %
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . .	17 %
<i>Bacillus megatherium</i> . . . . .	6 %
Sproßpilze . . . . .	3 %
Kokken . . . . .	2 %
	100 %

Bei der einen wesentlichen Teil der Mikroflora dieser Probe ausmachenden Gruppe der Fluoreszenten haben wir das *Bacterium fluorescens* und das *Bact. putidum* nebst einigen Übergangsformen zwischen den genannten Spezies angetroffen. Neben dem typischen *Bact. coli*, das seine gasproduzierende Kraft in den Milchzuckeragar hohen Schicht-Kulturen in leicht ersichtlicher Weise durch Zersprengen des Agarzylinders dokumentierte, kam im gleichen Mengenverhältnisse *Bacterium acidilactici*, das in seinem physiologischen Verhalten starke Anklänge an das *Bact. coli* zeigte, vor. Die Langstäbchen erwiesen sich als ziemlich geschwächte Stämme einer uns unbekannten Art, da der Großteil involviert war.

Der Gasbildner und Fluoreszenten wegen benutzten wir später diese Probe zur 2. Versuchsserienreihe, welche uns die Einwirkung von Laub auf frische und sterilisierte Milch demonstrieren sollte.

## Zusammenstellung der Keimzahlen sämtlicher Laubproben.

No. der Probe	Gelatineplatten Keime pro g	Agarplatten Keime pro g	Milchzuckeragar hohe Schicht Keime pro g	Gesamtkeimzahl pro g
1	35 000	66 000	2 000	82 000
2	150 000	100 000	6 500 000	6 740 000
3	850 000	1 500 000	2 000	1 520 000
4	35 000	6 000	20 000	51 000
5	35 000 000	9 000 000	1 000 000	36 900 000
6	5 000 000	5 000 000	1 000 000	8 500 000
7	25 000 000	20 000 000	15 000 000	47 000 000
8	30 000 000	35 000 000	7 000 000	53 000 000
9	30 000 000	35 000 000	7 000 000	40 000 000
10	53 000 000	54 000 000	10 000 000	90 000 000
11	4 000 000	3 800 000	3 100 000	4 700 000
12	60 000 000	53 000 000	20 000 000	61 000 000
13	45 000 000	40 000 000	4 000 000	49 000 000
14	300 000 000	180 000 000	4 000 000	370 000 000
15	35 000 000	15 000 000	17 000 000	48 000 000
16	115 000 000	110 000 000	40 000 000	115 000 000
17	57 000 000	53 000 000	4 000 000	64 000 000

Die mit den von uns in Anwendung gebrachten Untersuchungsmethoden bei den einzelnen geprüften Laubproben eruierten Keimzahlen betragen pro Gramm Material 51 000 bis 370 Mill., sind also sehr stark differierend; die mittlere Keimzahl beträgt pro Gramm Laub 58½ Mill. Diese hohen Zahlen sind begreiflich in Anbetracht des Umstandes, daß kaum ein anderes Einstreumittel nach dem Aufhören seiner Lebenstätigkeit bis zu seiner Verwendung, so dem Einflusse der Atmosphärien preisgegeben ist, wie das Laub.

Die Fälle, wo das Laub sofort nach dem Abfallen von den Bäumen eingeheimst und getrocknet wird, sind seltener als diejenigen, wo es längere

Zeit unter Obstbäumen oder im Walde liegen bleibt und gelegentlich bei trockenem Wetter eingesammelt wird. Solch' älteres Laub weist gewöhnlich die Zeichen der begonnenen Zersetzung deutlich auf, und zwar in der braunschwarzen Verfärbung der Blätter, deren Elastizität meistens wesentlich zurückgegangen ist, sodann auch in einer vermehrten Ansammlung von Bakterienmassen an seiner Oberfläche, und endlich deuten die Arten der Keime vielfach auf stattgehabte Umsetzungen hin. Gut getrocknet, ist selbstverständlich auch solches Laub zum Einstreuen noch verwendbar.

Nachfolgend teilen wir noch die Keimzahlen mit, wie sie Burri (14) bei frischgrünem Laube pro Gramm gefunden hat.

Birnbaumlaub . .	140 000; 1 040 000; 1 720 000.
Apfelbaumlaub . .	1 380 000; 9 800 000.
Nußbaumlaub . .	1 040 000.
Roßkastanienlaub	5 800 000; 600 000; 380 000.
Zwetschenbaumlaub	620 000.

Die durchschnittliche Keimmenge dieser Laubproben (2 252 000) ist kleiner, als die unsere, was wohl durch den Umstand zu erklären ist, daß es sich bei Burris Versuchen durchwegs um frisches, grünes Pflanzenmaterial handelte.

Die auf p.94 gebotene Zusammenstellung der Keimarten verschafft eine Übersicht über die in den Laubproben vorwiegend angetroffenen Mikroorganismen.

In den 17 von uns untersuchten Laubproben haben wir das

1. <i>Bacterium fluorescens</i> (Flügge) L. et N. . .	10-mal gefunden
2. Kokken . . . . .	9-mal „
3. Unbekannte Kurzstäbchen . . . . .	} je 8-mal „
Schimmelpilze . . . . .	
4. Unbekannte Langstäbchen . . . . .	7-mal „
5. <i>Bacterium herbicola</i> Burri et Duggeli . . .	6-mal „
6. <i>B. Güntheri</i> L. et N. . . . .	} je 5-mal „
<i>B. coli</i> (Escherich) L. et N. . . . .	
Aktinomycceten . . . . .	
Sproßpilze . . . . .	} je 4-mal „
7. Gelber Säurebildner Levy . . . . .	
<i>Bacterium acidilactici</i> Hueppe . . . . .	} je 3-mal „
8. <i>Bacillus mesentericus</i> (Flügge) L. et N. . .	
<i>B. mycoides</i> Flügge . . . . .	} je 2-mal „
9. <i>Bacterium putidum</i> (Flügge) L. et N. . . .	
Stäbchen a . . . . .	
Stäbchen b . . . . .	
<i>Bacillus subtilis</i> Cohn . . . . .	
<i>B. megatherium</i> De Bary . . . . .	} je 1-mal „
Diverse Arten . . . . .	
10. Kurzstäbchen in orangeroten Kolonien . . . . .	} je 1-mal „
<i>Bacterium punctatum</i> (Zimm.) L. et N. . .	

Im großen und ganzen treffen wir auf dem Laube ungefähr die gleichen Arten, wie wir sie auf Stroh und Schwarzstreu gefunden haben, allerdings in anderer prozentualer Verteilung hinsichtlich der Häufigkeit ihres Vorkommens.

Das Laub liegt oft wochenlang im Herbst bei naßkalter Witterung im Waldesschatten, bevor es zur Streunutzung herangezogen wird. Diese Verhältnisse bringen es wohl mit sich, daß die Feuchtigkeit und niedrige Temperaturen liebenden Fluorescenten auf den abgefallenen Blättern gut zu gedeihen vermögen. Selbst beim Eintrocknen und trockenen Aufbewahren des Laubes werden diese Bakterien in ihrer Lebenskraft nicht sonderlich geschwächt, zeigten sie doch auf den Nährböden stets gutes Wachstum, wobei die Farbstoffproduktion zumeist eine auffallend intensive war. Aus der Artenzusammen-

## No. der Laubprobe

\*) Bei den Angaben hinsichtlich des absoluten und prozentualen Anteiltes der Schimmelpilze und der Aktinomyzeten an der Gesamtkeimzahl ist zu beachten, daß die angeführten Zahlen sich auf die Menge der auf den Plattenkulturen gewachsenen Kolonien beziehen.

stellung ist ersichtlich, daß offenbar die Bedingungen, die dem Wachstum der Fluorescenten günstig sind, auch vielen Kokken und Schimmelpilzen zusagen. *Bacterium herbicola*, *Bact. Güntheri*, *Bact. coli* und *Bact. acidilactici* haben wir hier und da nachweisen können; ebenso Aktinomyceten und Sproßpilze.

Als spezifische Eigentümlichkeit der Bakterienflora des Laubes können wir das Vorkommen verschiedener Lang- und Kurzstäbchen, die auf den von uns benutzten Nährböden nur kümmerlich wuchsen, und in Milch verbracht, selbst nach längerer Aufbewahrungszeit keinerlei Veränderungen hervorzubringen vermochten, ansehen. Zeitmangels halber mußten wir darauf verzichten, diese Mikroorganismen eingehend zu verfolgen.

Die Sporenbildner (*Bacillus mesentericus*, *B. mycoides* und *B. megatherium*), die ihren natürlichen Standort vorwiegend im Erdboden haben und von dort durch direkte Kontaktinfektion, oder eventuell durch Windverschleppung auf Blätter gelangen können, haben wir bei unseren Laubuntersuchungen relativ selten angetroffen.

### C. Einwirkung frischer und benutzter Laubstreu auf frische und sterilisierte Milch.

#### a) Versuche mit Laubprobe No. 16.

Die Anordnung und der Gang der Versuche waren dieselben wie in den entsprechenden Abschnitten bei Stroh und Schwarzstreu.

#### Serie 20.

#### Die Mikroflora benutzter Laubstreu No. 16 in verschiedenem Alter.

Dem eigentlichen Versuche vorausgehend, hatten wir zuerst unmittelbar nach der Entnahme der entsprechenden Proben im Stalle und der Herstellung der Mischung von Kuhkot und Harn im Laboratorium diese Medien bakteriologisch zu prüfen. Die Mengenverhältnisse des Gemisches Kuhkot und Harn waren die gleichen, wie sie früher angewendet wurden.

Datum der Untersuchung: 26. September 1911.

Resultat:

#### FrISCHE Exkremente-Emulsion 8.

<i>Bacterium acidilactici</i> . . .	2 800 000	Keime pro g =	49 %
Kokken . . . . .	1 700 000	„ „ „ =	30 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	1 200 000	„ „ „ =	21 %
Gesamtkeimzahl . . . . .	5 700 000	„ „ „ =	100 %

Die Zusammensetzung der Mikroflora der zu der einen Hälfte der Versuche herangezogenen Laubprobe No. 16 war folgende:

<i>Bacterium coli</i> . . . . .	50 000 000	Keime pro g =	44 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	20 000 000	„ „ „ =	17 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	20 000 000	„ „ „ =	17 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . .	15 000 000	„ „ „ =	13 %
Unbekannte Arten . . . . .	10 000 000	„ „ „ =	9 %
	115 000 000	Keime pro g =	100 %

5 g dieser Laubprobe wurden mit 95 g der Exkremente-Emulsion 8 vermischt. Diese frisch hergestellte benutzte Laubstreu enthielt nun in 100 g folgende Mikroorganismen:

<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	366 000 000 = 33 %
<i>B. coli</i> . . . . .	364 000 000 = 32 %
Kokken . . . . .	161 500 000 = 14 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	100 000 000 = 9 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	75 000 000 = 7 %
Andere Arten . . . . .	50 000 000 = 5 %

Total . . . . . 1 116 500 000 = 100 %.

1 g der frischen benutzten Laubstreu enthielt somit 11 165 000 Keime.

Diese benutzte Laubstreu verteilten wir in 3 sterile Bechergläser, stellten diese zu 18° C und nahmen nach 12, 24 bzw. 48 Stunden die gewohnte bakteriologische Prüfung vor.

Das Resultat war folgendes:

Benutzte Streu. 12 Stunden bei 18° C aufbewahrt.

Untersucht am 26. September 1911. Befund:

<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	10 000 000 Keime pro g = 49 %
<i>B. coli</i> . . . . .	6 000 000 „ „ „ = 29 %
Kokken . . . . .	2 000 000 „ „ „ = 10 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	1 200 000 „ „ „ = 6 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	1 000 000 „ „ „ = 5 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	300 000 „ „ „ = 1 %

Gesamtkeimzahl . . . . . 20 500 000 Keime pro g = 100 %.

Benutzte Streu. 24 Stunden bei 18° C aufbewahrt.

Untersucht am 26. September 1911. Befund:

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	220 000 000 Keime pro g = 61 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	100 000 000 „ „ „ = 28 %
Kokken . . . . .	40 000 000 „ „ „ = 11 %

Gesamtkeimzahl . . . . . 360 000 000 Keime pro g = 100 %.

Benutzte Streu. 48 Stunden bei 18° C aufbewahrt.

Untersucht am 27. September 1911. Befund:

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	400 000 000 Keime pro g = 53 %
Kokken . . . . .	150 000 000 „ „ „ = 20 %
Unbekannte Arten . . . . .	150 000 000 „ „ „ = 20 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	30 000 000 „ „ „ = 4 %
<i>Bacillus megatherium</i> . . . . .	20 000 000 „ „ „ = 3 %

Gesamtkeimzahl . . . . . 750 000 000 Keime pro g = 100 %.

Wie zu erwarten war, haben wir bei der Aufbewahrung dieser sogenannten benutzten Laubstreu innerhalb 2 Tagen eine beträchtliche Keimvermehrung konstatieren können.

750 Millionen Keime pro Gramm ist die Menge, die sich am Schlusse des Versuches präsentierte, eine Zahl, die uns die Intensität der in dem Gemische vor sich gegangenen, durch die Tätigkeit der Bakterien bedingten Stoffumsetzungen einigermaßen vermuten läßt.

Hinsichtlich der Arten sehen wir, wie sich innerhalb der gegebenen Zeit, in dem Versuchsmaterial ein metabiotischer Prozeß vollzieht. Von Anfang an in der Emulsion stark vertreten und durch die Zugabe von Laub noch verstärkt, waren die Gruppen des *Bacterium acidilactici* und des *Bact. coli*, die dann auch nach 12stündiger Aufbewahrung zusammen nicht weniger als 78 Proz. der Gesamtkeimzahl ausmachten.

Die 24 und 48 Stunden aufgestellten Proben wiesen als neu hinzugetreten das *Bacterium Güntheri* auf. Kokken trafen wir in allen Proben. Ein merkbares Hervortreten der Laub-Bakterienflora in der benutzten Streu dürfen wir nur beim *Bact. herbicola* und den Fluorescenten in dem 12 Stunden aufbewahrten Material annehmen.



## Serie 21.

## Einwirkung benutzter Laubstreu auf sterilisierte Milch.

10g der in der vorigen Serie verwendeten, benutzten Laubstreu wurden gleich nach der Herstellung am 26. September 1911 mit 100 ccm sterilem Wasser vermischt und davon je 1 ccm, also die Mikroflora von  $\frac{1}{10}$  g benutzter Streu enthaltend, in 6, jeweils 100 ccm sterilisierte Milch fassende Kölbchen geimpft. 3 Erlenmeyer-Kölbchen wurden zu 12, die 3 andern zu 18°C gestellt. Nach 12, 24 bzw. 48 Stunden wurde die quantitative und die qualitative bakteriologische Prüfung der aufgestellten Milch auf die früher beschriebene Weise ausgeführt.

In 1 ccm der sterilisierten Milch befanden sich nach der Impfung mit der benutzten Laubstreu 11 165 Keime.

Die Ergebnisse des Versuches waren folgende:

## Vorprüfung:

Bezeichnung der Proben . .	IV a	IV b	IV c	IV d	IV e	IV f
Aufbewahrungstemperatur .	12°	12°	12°	18°	18°	18°
Zeit bis zur Untersuchung .	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH	4	4,2	4,8	4	4,6	13
Makroskopisches Aussehen .	Überall unverändert					

## Keimzahlen pro ccm Milch:

Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamtkeimzahl
IV a	8 500	10 000	3 000	11 800
IV b	62 000	46 000	21 000	92 000
IV c	2 200 000	2 000 000	1 200 000	2 900 000
IV d	39 000	45 000	2 000	53 000
IV e	14 000 000	10 000 000	5 000 000	23 000 000
IV f	380 000 000	350 000 000	17 000 000	380 000 000

## Übersicht der Keimarten.

Keimart	Benutzte Laubstreu	IV a	IV b	IV c	IV d	IV e	IV f
	%	%	%	%	%	%	%
Kokken . . . . .	14	13	16	28	13	9	—
Bacterium herbicola aureum .	7	14	11	—	26	—	—
Gelbes Kurzstäbchen . . . . .	—	—	—	—	—	9	—
Kurzstäbchen I, in grauen Kolonien wachsend . . . . .	—	—	—	27	—	30	8
Kurzstäbchen II, in grauen Kolonien wachsend . . . . .	—	—	38	14	—	26	—
Bacterium fluorescens . . . . .	9	—	4	—	—	—	—
B. putidum . . . . .	—	—	—	7	—	—	—
B. Güntheri . . . . .	—	—	15	—	—	—	45
B. aërogenes . . . . .	—	4	—	—	—	—	—
B. acidilactici . . . . .	33	64	13	24	57	26	47
B. coli . . . . .	32	—	—	—	—	—	—
Bacillus megatherium . . . . .	—	5	—	—	—	—	—
B. putrificus . . . . .	—	—	—	—	4	—	—
Sarcinen . . . . .	—	—	3	—	—	—	—
Nicht bestimmte Arten . . . . .	5	—	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100	100

Während bei 12° C in den ersten 12 Stunden die Mikroflora der Milch quantitativ annähernd gleich blieb, um dann später sich kräftig zu ver-

mehren, setzte bei 18° C die Vermehrung rascher ein und erreichte bald einen sehr hohen Intensitätsgrad.

Das im Laub No. 16, wie auch in der Exkrement-Emulsion 8 sich reichlich findende *Bacterium acidilactici* hat sich in der sterilisierten Milch sowohl bei 12, wie bei 18° C kräftig entwickelt. Auch die Kokken und teilweise das *Bact. herbicola* konnten sich behaupten. Vereinzelt treten Arten auf, die wir vorher in keinem der in die Milch eingebrachten Medien nachweisen konnten, wie beispielsweise ein Kurzstäbchen, das wir seiner gelblich wachsenden Kolonien wegen kurzweg als Gelbes Kurzstäbchen bezeichneten, ferner *Bacterium Güntheri*, zeitweise sogar in größerer Menge auftretend, dann Sporenbildner, Sarcinen und andere Arten. Die als graue Kurzstäbchen I bezeichneten Bakterien sind uns nach kurzer Zeit beim Weiterimpfen eingegangen, indessen sich das graue Kurzstäbchen II bei eingehender Prüfung als ein degeneriertes *Bacterium coli* herausstellte.

#### Serie 22.

#### Einwirkung benutzter Laubstreu auf frische Milch.

6 mit je 100 ccm frischer Milch gefüllte Erlenmeyerkölbchen wurden mit der Mikroflora von  $\frac{1}{10}$  g eines in bekanntem Gewichtsverhältnisse hergestellten Gemisches von Laub No. 16 mit Kuhdünger-Emulsion geimpft, bei 2 verschiedenen Temperaturen, 12 und 18° C, aufbewahrt und nach vorgeschriebenen Zeitintervallen bakteriologisch geprüft.

Dem eigentlichen Versuche mußte die bakteriologische Untersuchung der frischen Milch und der Kuhdünger-Emulsion vorangehen. Ihre Resultate seien im folgenden wiedergegeben:

Frische Milch 6. Datum der Untersuchung: 5. Oktober 1911.

Keimgehalt pro ccm:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	22 000
„ „ Agarplatten . . . . .	66 000
In den Milchzuckeragar hohen Schichten .	15 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	66 000.

Keimarten:

Kokkenarten, wie sie in frisch ermolkener Milch gewöhnlich vorkommen . . . . .	47 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	38 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	15 %
	<hr/> 100 %.

Säuregrad in ccm n/10 NaOH ausgedrückt = 3,2.

Emulsion von Kuhkot und Kuhharn 9.

Keimmenge:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	150 000	Keime pro g
„ „ Agarplatten . . . . .	350 000	„ „ „
In den Milchzuckeragar hohen Schichten . .	250 000	„ „ „
Gesamtkeimzahl . . . . .	680 000	„ „ „

Keimarten:

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	37 %
Aktinomyeten . . . . .	21 %
<i>Bacillus megatherium</i> . . . . .	15 %
Schimmelpilze . . . . .	9 %
<i>Bacillus mycoides</i> . . . . .	7 %
<i>B. mesentericus</i> . . . . .	7 %
Kokken . . . . .	4 %
	<hr/> 100 %.

5 g der Laubprobe No. 16 wurden mit 95 g der Exkrement-Emulsion 9 vermengt und so 100 g benutzter Laubstreu hergestellt, mit folgender bakteriologischer Zusammensetzung:

<i>Bacterium coli</i> . . . . .	250 000 000 =	40 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	100 000 000 =	15 %
<i>B. fluorescens</i> . . . . .	100 000 000 =	15 %
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	75 000 000 =	12 %
Unbekannte Arten . . . . .	50 000 000 =	8 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	23 750 000 =	4 %
Aktinomyceten . . . . .	13 300 000 =	2 %
<i>Bacillus megatherium</i> . . . . .	9 500 000 =	2 %
Schimmelpilze . . . . .	5 700 000 =	} 1 %
<i>Bacillus mycoides</i> . . . . .	4 750 000 =	
<i>B. mesentericus</i> . . . . .	4 750 000 =	} 1 %
Kokken . . . . .	2 850 000 =	
		639 600 000 = 100 %.

1 g der benutzten Laubstreu enthielt somit 6 396 000 Keime.

Durch das Impfen von  $\frac{1}{10}$  g benutzter Streu in 100 ccm frische Milch wurden letzterer pro ccm 6396 Keime zugefügt, so daß die frische Milch 6, nach erfolgter Impfung zu Beginn des Versuches, pro ccm 72 396 Keime enthielt.

Die Ergebnisse des Versuches waren folgende:

#### Vorprüfung:

Bezeichnung der Proben . .	VI a	VI b	VI c	VI d	VI e	VI f
Aufbewahrungstemperatur .	12° C	12° C	12° C	18° C	18° C	18° C
Zeit bis zur Untersuchung .	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH	3,2	3,2	4,2	3,3	3,8	16,3

Das makroskopische Aussehen der Proben VI a—VI e war unverändert geblieben; Probe VI f zeigte gallertige Gerinnung der Milch.

#### Anzahl der Keime pro ccm:

Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamtkeimzahl
VI a	47 000	52 000	4 000	52 000
VI b	80 000	78 000	20 000	100 000
VI c	28 000 000	30 000 000	16 000 000	51 000 000
VI d	750 000	89 000	25 000	1 560 000
VI e	29 000 000	29 000 000	5 500 000	34 500 000
VI f	1 200 000 000	1 200 000 000	1 200 000 000	1 400 000 000

Über die in der Milch nachgewiesenen Keimarten orientiert die Zusammenstellung auf p. 100.

Aus den vorliegenden Untersuchungen ersehen wir, wie eine frisch gemolkene Milch, die nachträglich eine Infektion von Laubstreu und Kuhkotpartikeln erleidet, je nach der Aufbewahrungstemperatur, in der Zusammensetzung ihrer Mikroflora Wandlungen durchmachen kann. In den meisten Fällen behalten die Bakterien der Milch die Oberhand und erwehren sich der von außen zugetretenen Eindringlinge.

Fast die Hälfte aller Keime der frischen Milch waren Kokken, die sich auch in allen Proben behaupten konnten. Die aus dem Dünger stammenden Keime des *Bacterium Güntheri*, unterstützt durch die schon in der Milch anwesenden, treffen wir, außer in Probe VI a überall an, doch vermögen sie nur in Milchprobe VI f siegreich das Feld zu behaupten; daselbst sind sie die Hauptursache der gallertigen Gerinnung und des hohen Säuregrades der Milch.

Dürfen wir das vereinzelte Auftreten der mit der Exkrememente-Emulsion eingeschleppten Sporenbildner, Aktinomyceten und Schimmelpilze in den Milchproben als unbedeutend übergehen, so müssen wir einen anderen Um-

## Übersicht der Keimarten.

Keimart	Proben							
	Benutzte Streu %	Frische Milch %	VI a %	VI b %	VI c %	VI d %	VI e %	VI f %
Kokken . . . . .	1	47	4	56	34	24	55	14
<i>Bacterium herbicola</i> . .	12	—	—	—	—	—	—	—
<i>B. fluorescens</i> . . . .	15	—	—	—	—	2	—	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . .	—	—	—	—	—	33	—	—
Kurzstäbchen, in gelben Kolonien wachsend .	—	—	31	14	16	10	29	—
Kurzstäbchen I, in grau. Kolonien wachsend .	—	—	29	10	—	11	—	—
Kurzstäbchen II, in gr. Kolonien wachsend .	—	—	13	—	—	—	—	—
<i>Bacterium Güntheri</i> .	4	38	—	20	32	13	16	86
<i>B. acidilactici</i> . . . .	15	15	13	—	—	4	—	—
<i>B. coli</i> . . . . .	40	—	—	—	6	3	—	—
<i>Bacillus megatherium</i> .	2	—	—	—	—	—	—	—
<i>B. mesentericus</i> . . .	+ <sup>1)</sup>	—	10	—	3	—	—	—
<i>B. mycoides</i> . . . . .	+	—	—	—	—	—	—	—
Aktinomyceten . . . .	2	—	—	—	3	—	—	—
Schimmelpilze . . . .	1	—	—	—	6	—	—	—
Unbekannte Arten . .	8	—	—	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100	100	100

stand als besonders erwähnenswert hervorheben, nämlich das zahlreiche Auftreten der verschiedenen, als gelbe und graue Kurzstäbchen I und II bezeichneten Bakterienarten.

Schon in der geimpften sterilen Milch von Serie 21 begegneten uns diese Organismen, ohne daß wir dort über ihre Herkunft sicheren Aufschluß geben konnten. Da sowohl die Milch als auch die Exkremente-Emulsion dieser Serie mit jenen der vorigen Versuchsserie nicht identisch sind und wir hier gleichwohl wieder die in Frage stehenden Bakterien antreffen, so müssen wir voraussichtlich das Laub als den Träger der erwähnten Kurzstäbchen ansehen. Daß diese Annahme richtig sein dürfte, zeigen uns die später mit Laub No. 16 durchgeführten Versuche an frischer und sterilisierter Milch.

Ob der „Gelbes Kurzstäbchen“ genannte Organismus eine dem *Bacterium herbicola* nahestehende selbständige Art, oder nur eine degenerierte Rasse des letzteren sei, konnten wir nicht ermitteln. Die grauen Kurzstäbchen I und II waren wiederum in typischen Involutionsformen vorhanden, schienen aber trotzdem in der Milch noch ziemlich gut zu gedeihen; ein schädigender Einfluß auf Milch war durch keines der Kurzstäbchen zu konstatieren. Unsere Befürchtung, daß das *Bacterium acidilactici* sowohl, wie das *Bact. coli* des Laubes ihre verderbliche Wirksamkeit in der Milch entfalten würden, hat sich nicht erfüllt.

Zusammenfassend geht aus der Untersuchung hervor, daß in diesem Falle, dank der intensiven Vermehrung der Kokken und dem guten Gedeihen des *Bacterium Güntheri* einerseits, sowie der harmlosen Natur der Laubkurzstäbchen andererseits, ein Nachteil für die normale Gerinnung der Milch aus der Infektion mit der verwendeten benutzten Laubstreu nicht entstanden ist.

<sup>1)</sup> + bedeutet: Vorhanden, aber prozentual nicht faßbar.

## Serie 23.

## Einwirkung frischer Laubstreu auf frische Milch.

Mit der frischen Milch 6 wurde auch dieser Versuch durchgeführt. Die jeweils zu 100 ccm Milch zugefügte Streumenge betrug  $\frac{1}{100}$  g, bzw. die Mikroflora von  $\frac{1}{100}$  g Laubstreu wurde zugesetzt. Zahl der Erlenmeyerkölbchen, Aufbewahrungstemperatur (12 und 18° C) und Zeit bis zur Untersuchung (24 Stunden und Zeitpunkt der makroskopischen Veränderung) waren die früher angegebenen.

Zu Beginn der Versuche enthielt die mit Laub geimpfte Milch 77 500 Keime pro ccm.

Untersuchungsergebnisse:

## Vorprüfung:

Bezeichnung der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VII a	12° C	24 Std.	3,5
VII b	12° C	8 Tage	18,3
VII c	18° C	24 Std.	4,2
VII d	18° C	5 Tage	19,2

Das makroskopische Aussehen der Probe VII a war unverändert geblieben.

Probe VII b hatte in der Rahmdecke verschiedene Gasblasen; unter dem Rahme zeigte sich eine 2 mm dicke Serumzone; die Flüssigkeit war deutlich gallertig geronnen, mit vereinzelten Gasblasen im Coagulum.

Probe VII c war unverändert flüssig.

Bei Probe VII d war die grüngelb verfärbte Rahmdecke von etlichen Gasblasen durchsetzt; darunter fand sich eine 3 mm breite Serumzone und das Ganze war fest gallertig geronnen.

Die gefundene Menge der Keime pro ccm betrug:

Bezeichnung der Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamtkeimzahl
VII a	1 300 000	1 300 000	200 000	1 300 000
VII b	2 500 000 000	2 600 000 000	4 000 000 000	5 200 000 000
VII c	50 000 000	45 000 000	7 000 000	50 000 000
VII d	720 000 000	670 000 000	520 000 000	1 020 000 000

## Zusammenstellung der Bakterienarten.

Bakterienart	Laub No. 16 %	Frische Milch %	VII a %	VII b %	VII c %	VII d %
Kokken . . . . .	—	47	—	—	14	—
Bacterium herbicola aureum . . .	13	—	8	—	16	—
B. fluorescens . . . . .	17	—	—	23	—	49
Kurzstäbchen I, in grauen Kolonien wachsend . . . . .	—	—	61	—	44	—
Bacterium Güntheri . . . . .	—	38	23	67	16	37
B. acidilactici . . . . .	17	15	—	10	—	—
B. coli . . . . .	44	—	8	—	10	14
Unbekannte Arten . . . . .	9	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100

In den 24 Stunden aufbewahrten Proben VII a und VII c entwickelten sich die s. Zt. in Serie 22 erwähnten, in grauen Kol. wachsenden Kurzstäbchen I recht gut, so daß nun die Vermutung, sie seien mit der Streu in die Milch gelangt, gerechterweise kaum mehr anzuzweifeln ist. In diesem Versuche

sehen wir bei allen Proben eine erhebliche Anteilnahme der Streubakterien an der Zusammensetzung der Mikroflora der einzelnen Milchproben. So enthalten beispielsweise Probe VIIa und VIIc das *Bact. herbicola*, ebenso finden wir darin das *Bact. coli*. Während in Probe VIIb wohl das *Bact. acidilactici* für die im Coagulum konstatierten Gasblasen verantwortlich gemacht werden muß, ist es bei VIId das *Bact. coli*, das sich in dieser Weise bemerkbar machte; die Grünfärbung der Rahmdecke haben wir dem *Bact. fluorescens* zuzuschreiben.

Wir sehen in diesem Versuche, zum Unterschiede von der vorherigen Serie, wie die in die frische Milch eingebrachten Streu-Bakterien daselbst eine mehr oder weniger kräftige Wachstumsförderung erfahren und ev. dazu beitragen können, einer normalen Säuerung der Milch hemmend in den Weg zu treten. Wohl ist bei den längere Zeit stehen gebliebenen Proben durch Mithilfe des *Bact. Güntheri* eine gallertige Gerinnung eingetreten, doch war dieselbe keine reine, indem die unerwünschte Begleiterscheinung der Rahmverfärbung dazu kam.

#### Serie 24.

#### Einwirkung frischer Laubstreu auf sterilisierte Milch.

Vier Erlenmeyerkölbchen, je mit 100 ccm sterilisierter Milch gefüllt und mit der Mikroflora von  $\frac{1}{100}$  g von Laubprobe No. 16 geimpft, wurden bei 12 und 18° C aufgestellt und die Milch teils nach 24 Stunden, teils nach deutlicher, äußerlich wahrnehmbarer Veränderung untersucht.

Durch die Impfung der sterilisierten Milch mit  $\frac{1}{100}$  g Laub wurden der Flüssigkeit 11 500 Keime pro ccm zugefügt.

Datum der Untersuchung: 26. Oktober 1911.

#### Vorprüfung:

Bezeichnung der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VIII a	12°	24 Std.	3,7
VIII b	12°	7 Tage	17,6
VIII c	18°	24 Std.	5,8
VIII d	18°	5 Tage	13,2

#### Makroskopisches Aussehen der Milchproben:

Probe VIII a war unverändert.

Probe VIII b wies in der zusammenhängenden Rahmdecke blasig emporgetriebene Stellen auf. Darunter befand sich eine 2—3 mm breite Serumzone; das Kasein war grobflockig-gallertig ausgeschieden.

Probe VIII c war unverändert.

Probe VIII d. Rahmdecke war zusammenhängend, an einigen Stellen blasig aufgetrieben; darunter fand sich eine  $\frac{1}{2}$  cm breite, hellgelbe Serumzone. In der Flüssigkeit schwamm die gallertig bis feinflockig ausgeschiedene Käsemasse, die hie und da von Blasen durchsetzt war.

#### Keimzahlen pro ccm Milch:

Bezeichnung der Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamtkeimzahl
VIII a	10 500 000	8 000 000	1 500 000	12 000 000
VIII b	750 000 000	1 370 000 000	1 200 000 000	1 770 000 000
VIII c	600 000 000	600 000 000	100 000 000	700 000 000
VIII d	1 600 000 000	1 500 000 000	1 400 000 000	1 820 000 000

## Übersicht der Keimarten.

Art der Keime	Laubprobe No. 16 %	VIII a %	VIII b %	VIII c %	VIII d %
<i>Bacterium herbicola aureum</i> . . .	13	—	—	—	—
Kurzstäbchen, in gelben Kolonien wachsend . . . . .	—	33	—	29	—
Kurzstäbchen, in grauen Kolonien wachsend . . . . .	—	33	—	57	—
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	17	21	12	—	4
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	—	13	68	14	77
<i>B. acidi lactici</i> . . . . .	17	—	11	—	8
<i>B. coli</i> . . . . .	44	—	9	—	11
Unbekannte Arten . . . . .	9	—	—	—	—
	100	100	100	100	100

Wie bei der letzten Serie in der frischen Milch, so kommen hier in der sterilisierten und dann geimpften Milch die *B. herbicola*-ähnlichen, gelben Kurzstäbchen und die ebenfalls früher schon erwähnten, in grauen Kolonien wachsenden Kurzstäbchen I wieder zum Vorschein. Neu in diesem Versuche ist das Auftreten des *Bact. Güntheri*. Wenige solcher Keime, die sich in der Streu befanden und die nicht nachweisbar waren, genügen unter Umständen, um dieser Art in Milch, als überaus günstigem Nährmedium, die Vorherrschaft zu sichern. Diesen Fall haben wir hier bei den Proben VIIIfb und VIIId, wo das *Bact. Güntheri*, vereint mit dem *Bact. acidi lactici* und dem *Bact. coli*, die bei der Vorprüfung besprochenen makroskopischen Veränderungen der Proben erzeugte und wohl die Ursache des hohen Säuregrades jener Milch war.

## b) Versuche mit Laubprobe No. 17.

In gleicher Weise, wie mit dem Laube der Probe 16, wurden Versuchsserien mit Material von Probe 17 angelegt und durchgeführt. Als Impfmenge wurde überall  $\frac{1}{100}$  g verwendet, während die Anordnung der Versuche, die Aufbewahrungstemperaturen und Untersuchungszeiten, Nährböden usw. die gleichen geblieben sind, wie bei der Laubprobe No. 16.

Untersuchungsergebnisse beim Ausgangsmaterial für Serie 25:

Laubprobe No. 17: Gesamtkeimzahl pro g 64 000 000 Keime.

Arten:	Fluoreszenten . . . . .	34 %
	<i>Bacterium coli</i> . . . . .	19 %
	<i>B. acidi lactici</i> . . . . .	19 %
	Langstäbchen (nicht weiter verfolgt). .	17 %
	<i>Bacillus megatherium</i> . . . . .	6 %
	Sproßpilze . . . . .	3 %
	Kokken . . . . .	2 %

100 %.

Exkrememente-Emulsion 10. Befund am 16. Dezember 1911.

<i>Bacterium acidi lactici</i> . .	700 000 Keime pro g =	30 %
<i>B. coli</i> . . . . .	700 000 " " " =	30 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . .	500 000 " " " =	22 %
<i>B. subtilis</i> . . . . .	300 000 " " " =	13 %
<i>Bacterium fluorescens</i> . .	100 000 " " " =	5 %

2 300 000 Keime pro g = 100 %.

Bakteriologische Zusammensetzung von 100 g benutzter Streu, bestehend aus 95 g der Exkrememente-Emulsion 10 und 5 g der Laubprobe No. 17:

<i>Bacterium coli</i> . . . . .	126 500 000 =	24 %
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	126 500 000 =	24 %
Fluoreszenten . . . . .	119 500 000 =	21 %
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) . .	55 000 000 =	10 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	47 500 000 =	9 %
<i>B. subtilis</i> . . . . .	28 500 000 =	5 %
<i>B. megatherium</i> . . . . .	20 000 000 =	4 %
Sproßpilze . . . . .	10 000 000 =	2 %
Kokken . . . . .	5 000 000 =	1 %
	538 500 000 =	100 %

1 g der frisch hergestellten benutzten Laubstreu enthielt 5 385 000 Keime.

Die frisch zubereitete, benutzte Laubstreu wurde in ungefähr 3 gleich großen Portionen in ausgeflamte Bechergläser verteilt, mit steriler Glasschale lose bedeckt und zu 18° C gestellt. Nach 12, 24 bzw. 48 Stunden nahmen wir die bakteriologische Untersuchung der Proben vor und gewannen dabei folgendes Resultat:

#### Serie 25.

Die Mikroflora benutzter Laubstreu verschiedenen Alters.

Untersuchungsergebnisse bei der sog. benutzten Laubstreu No. 17. (5 g Laub + 95 g Exkrement-Emulsion.)

#### Keimzahlen pro g:

Nährboden	Probe III a 12 Std. alt	Probe III b 24 Std. alt	Probe III c 48 Std. alt
Auf den Gelatineplatten . . . . .	3 400 000	72 000 000	260 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	4 700 000	76 000 000	470 000 000
In den Milchzuckeragarhohen Schichten	2 200 000	80 000 000	170 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	6 600 000	94 000 000	550 000 000

Aus obigen Zahlen ist zu ersehen, daß die zu dem Versuch herangezogene, bei 18° C aufbewahrte, benutzte Laubstreu nach 12stündiger Versuchszeit ein relativ geringes Ansteigen der Keimzahl zeigt; im 2 Tage alten Material ist die Zahl der Mikroben auf das ca. 102fache der ursprünglichen Keimmenge gestiegen.

Die qualitative Prüfung ergab:

Keimarten	Benutzte Laubstreu %	III a %	III b %	III c %
Kokken . . . . .	1	18	11	45
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	21	6	—	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt)	—	4	—	—
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	—	—	—	24
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	24	31	57	—
<i>B. coli</i> . . . . .	24	17	32	16
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt)	10	6	—	—
<i>Bacillus megatherium</i> . . . . .	4	—	—	—
<i>B. mesentericus</i> . . . . .	9	15	—	15
<i>B. subtilis</i> . . . . .	5	—	—	—
Sproßpilze . . . . .	2	3	—	—
	100	100	100	100

Begreiflicherweise finden wir in allen 3 Proben das *Bact. coli*, da ja diese Art ursprünglich sowohl im Laub als in der Exkrement-Emulsion ver-



treten war. Das *Bact. acidilactici* treffen wir wohl in den 12 und 24 Stunden aufbewahrten Proben, nicht aber im 48 Stunden alten Material. *Bacillus mesentericus* tritt 2 mal auf. Das anfänglich nirgends vorgefundene *Bact. Güntheri* steht am Schlusse des Versuches in Probe IIIc im Mengenverhältnisse der einzelnen Arten an 2. Stelle. In allen Proben finden wir ferner Kokken, die wir jedoch nicht summa summarum als mit den im Laube vorgefundenen Arten identifizieren konnten. Ein wesentlicher Teil dürfte aus der Emulsion herkommen, wo sich diese Kugelbakterien bei der ersten Untersuchung voraussichtlich in sehr kleinen Mengen vorgefunden haben und gleich dem *Bact. Güntheri* erst nachträglich bei der Aufbewahrung kräftige Vermehrung erfuhren.

## Serie 26.

## Einwirkung benutzter Laubstreu auf sterilisierte Milch.

Die in Serie 25 verwendete frische Exkrement-Emulsion 10, vermengt mit Laub No. 17, also die gleiche benutzte Laubstreu, wie in vorstehender Serie, wurde in der Menge von  $\frac{1}{100}$  g in 6 sterilisierte Milchproben von 100 ccm geimpft, diese bei 12° C und 18° C aufgestellt und nach 12, 24 bzw. 48 Stunden bakteriologisch geprüft.

## Vorprüfung:

Bezeichnung der Proben . .	IV a	IV b	IV c	IV d	IV e	IV f
Aufbewahrungstemperatur . .	12°	12°	12°	18°	18°	18°
Zeit bis zur Untersuchung . .	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH	3,5	3,7	4,2	3,5	3,8	4,7

Keine der Proben zeigte nach der vorgeschriebenen Aufbewahrungszeit eine äußerlich wahrnehmbare Veränderung. Die mit frischer benutzter Streu geimpfte, sterile Milch enthielt zu Anfang des Versuches 538 Keime pro ccm.

## Keimzahlen pro ccm Milch:

Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamtkeimzahl
IV a	370	620	50	830
IV b	430	630	300	690
IV c	5 000	8000	4 000	13 300
IV d	600	860	490	1 100
IV e	240 000	200 000	160 000	270 000
IV f	33 000 000	35 000 000	10 000 000	45 000 000

Bei der Durchsicht nachstehender Tabelle (vide p. 106) können wir hinsichtlich Verteilung der Arten in den einzelnen Proben folgende Tendenzen erkennen:

Die kühler aufbewahrten Proben zeigen eine wesentliche Wachstumsförderung des *Bact. fluorescens*, ein Fall, dem wir schon früher begegneten. Solchen Temperatureinflüssen scheinen die Kokken weniger unterworfen zu sein, da wir sie fast in allen Proben wiederfinden können. Eine ganze Anzahl, teils in der Streu, teils in der Exkrement-Emulsion in kleiner Menge vorkommender und deshalb kulturell nicht nachweisbarer Mikroben, scheint durch die Versetzung in das neue Nährmedium (sterile Milch) zu kräftiger Vermehrung angeregt worden zu sein, treffen wir doch in

## Übersicht der Arten.

Arten	Benutzte Laubstreu %	IV a %	IV b %	IV c %	IV d %	IV e %	IV f %
Kokken . . . . .	1	18	—	30	7	11	13
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	21	27	18	30	28	—	—
<i>B. putidum</i> . . . . .	—	—	4	—	—	—	—
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	—	—	6	—	—	—	—
Kurzstäbchen I in grauen Kolonien . . . . .	—	30	—	—	10	—	—
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	—	—	—	11	—	—	—
<i>B. aërogenes</i> . . . . .	—	7	—	—	15	—	—
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	24	12	42	10	14	41	—
<i>B. coli</i> . . . . .	24	6	16	19	15	22	78
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	10	—	—	—	—	11	—
<i>Bacillus megatherium</i> . . . . .	4	—	—	—	—	—	—
<i>B. mesentericus</i> . . . . .	9	—	10	—	11	15	—
<i>B. subtilis</i> . . . . .	5	—	—	—	—	—	—
<i>B. putrificus</i> . . . . .	—	—	—	—	—	—	9
Sproßpilze . . . . .	2	—	4	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100	100

größerer Zahl den uns von früheren Untersuchungen her schon bekannten, „Kurzstäbchen I in grauen Kolonien“, genannten Mikroorganismus, ferner *Bact. herbicola aureum*, *Bact. Güntheri*, *Bact. aërogenes*, *Bact. putidum* und *Bac. putrificus*.

Für das Wesentlichste des ganzen Versuches halten wir den Nachweis, daß die in der Streu und der Exkrememente-Emulsion schon von Anfang an dominierenden Gasbildner *Bact. acidilactici* und *Bact. coli*, auch in der sterilen Milch eine annähernd gleich wichtige Stellung beizubehalten vermochten. Werden diese Mikroorganismen auch bei den Proben IVa bis IVc von den Fluorescenten bedrängt, so wird bei den zu 18° C gestellten, geimpften Milchproben, zugleich mit zunehmendem Alter der Milch, ihr Einfluß auf die Zusammensetzung der Mikroflora ein um so größerer. Aus dem Versuche ersehen wir, wie eine ursprünglich sterile Milch, infiziert mit nur kleiner Quantität Material, das reich ist an gasbildenden Spaltpilzen, diesen Bakterien gutes Gedeihen sichern kann, sofern keine kräftigen Milchsäurebakterien, speziell Angehörige der Gruppe des *Bact. Güntheri*, dieser Überwucherung entgegentreten.

## Serie 27.

## Einwirkung benutzter Laubstreu auf frische Milch.

Die Herstellung, Aufbewahrung und Untersuchung der Proben erfolgte wie üblich. Dem eigentlichen Versuche ging, wie gewohnt, vorerst die bakteriologische Prüfung der frischen Milch und der mit dem Laube zu mischenden Kuhkot-Harn-Emulsion voran.

Befund in der frischen Milch 7. Datum: 8. Januar 1912.

In quantitativer Hinsicht:

Bakterien pro ccm

Auf den Gelatineplatten . . . . . 120 000

Auf den Agarplatten . . . . . 200 000

In den Milchzuckeragar hohen Schichten . . . 1 000 000

Gesamtkeimzahl . . . . . 1 040 000.

## In qualitativer Hinsicht:

Bacterium Güntheri . . . . .	800 000 = 77 %
Kokken . . . . .	200 000 = 19 %
Bacterium acidilactici . . . . .	20 000 = 2 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	20 000 = 2 %
	<hr/> 1 040 000 = 100 %.

Befund in der Exkrement-Emulsion 11. Datum: 8. Januar 1912.

## In quantitativer Hinsicht:

	Keime pro g
Auf den Gelatineplatten . . . . .	700 000
Auf den Agarplatten . . . . .	2 600 000
In den Milchezuckeragar hohen Schichten . . . . .	1 800 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	4 400 000

## In qualitativer Hinsicht:

Bacterium Güntheri . . . . .	1 800 000 = 41 %
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	1 000 000 = 22 %
Aktinomyeten . . . . .	800 000 = 18 %
Bacillus mesentericus . . . . .	400 000 = 9 %
Mycelpilze . . . . .	200 000 = 5 %
Bacillus subtilis . . . . .	200 000 = 5 %
Summa . . . . .	<hr/> 4 400 000 = 100 %.

Zur Impfung der Milch verwendeten wir eine benutzte Laubstreu, bestehend aus einer Mischung von 95 g Exkrement-Emulsion 11 und 5 g der Laubprobe No. 17, mit folgender Zusammensetzung:

Bacterium Güntheri . . . . .	171 000 000 = 23 %
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	150 000 000 = 20 %
Fluoreszenten . . . . .	110 000 000 = 14 %
Aktinomyeten . . . . .	76 000 000 = 10 %
Bacterium coli . . . . .	60 000 000 = 8 %
B. acidilactici . . . . .	60 000 000 = 8 %
Bacillus mesentericus . . . . .	38 000 000 = 5 %
B. megatherium . . . . .	20 000 000 = 3 %
B. subtilis . . . . .	19 000 000 = 3 %
Mycelpilze . . . . .	19 000 000 = 3 %
Sproßpilze . . . . .	10 000 000 = 2 %
Kokken . . . . .	5 000 000 = 1 %
	<hr/> 738 000 000 = 100 %.

Die frisch hergestellte, benutzte Laubstreu enthielt pro g 7 380 000 Keime.

Von dieser benutzten Laubstreu wurden zu 6, je 100 ccm frische Milch enthaltenden Erlenmeyerkölbchen je  $\frac{1}{100}$  g, bzw. die Mikroflora von  $\frac{1}{100}$  g zugefügt, d. h. pro ccm Milch eine Zufuhr von 738 Keimen vollzogen. Die geimpfte Milch enthielt zu Beginn des Versuches pro ccm 1 040 738 Keime.

Hinsichtlich der Aufbewahrungstemperatur und der Zeit bis zur durchgeführten Untersuchung verweisen wir auf die in der Vorprüfung gemachten Angaben.

Untersuchungsergebnisse der geimpften Milchproben.  
Vorprüfung:

Bezeichnung der Proben . . .	VI a	VI b	VI c	VI d	VI e	VI f
Aufbewahrungstemperatur .	12°	12°	12°	18°	18°	18°
Zeit bis zur Untersuchung .	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH	3,5	3,6	4	3,7	3,8	14,1

Bei der Untersuchung zeigte einzig Probe VI f eine wahrnehmbare makroskopische Veränderung, da die Milch schwache gallertige Gerinnung zeigte; der Säuregrad war daselbst der höchste von allen Proben.

## Anzahl der Keime pro ccm:

Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamtkeimzahl
VI a	680 000	220 000	170 000	910 000
VI b	130 000	100 000	10 000	130 000
VI c	16 000 000	12 000 000	5 000 000	21 000 000
VI d	180 000	180 000	120 000	180 000
VI e	16 000 000	40 000 000	92 000 000	117 000 000
VI f	1 900 000 000	2 000 000 000	1 200 000 000	2 600 000 000

## Keimarten:

Keimart	Benutzte Laubstreu %	Frische Milch %	VI a %	VI b %	VI c %	VI d %	VI e %	VI f %
Kokken . . . . .	1	19	81	13	—	89	9	—
Bacterium fluorescens	14	—	—	7	10	11	7	50
B. putidum . . . . .	—	—	—	—	10	—	—	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) .	—	2	19	59	—	—	3	—
Bacterium Güntheri.	23	77	—	11	23	—	68	50
B. aërogenes . . . . .	—	—	—	7	—	—	—	—
B. acidi lactici . . . . .	8	2	—	—	—	—	—	—
B. coli . . . . .	8	—	—	—	—	—	3	—
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) .	20	—	—	—	—	—	—	—
Bacillus megatherium	3	—	—	—	—	—	—	—
B. mesentericus . . . . .	5	—	—	—	—	—	—	—
B. subtilis . . . . .	3	—	—	—	57	—	—	—
B. putrificus . . . . .	—	—	—	3	—	—	10	—
Aktinomyceten . . . . .	10	—	—	—	—	—	—	—
Sproßpilze . . . . .	2	—	—	—	—	—	—	—
Mycelpilze . . . . .	3	—	—	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100	100	100

Sehen wir uns den Einfluß der Laub- und Exkr.-Emulsion-Bakterien auf die frische Milch an, so können wir konstatieren, daß dieser absolut keinen einheitlichen Charakter trägt und überhaupt kaum von größerer Bedeutung ist. Von Probe zu Probe sind es andere Gruppen von Keimen, die vorherrschend werden. Während die Kokken den 12 Stunden aufbewahrten Proben das Gepräge verleihen, sind es bei den 24 Stunden alten einmal die nicht weiter verfolgten Kurzstäbchen, das andere Mal Bact. Güntheri. Fast überall vermögen sich die mit dem Laube eingeführten Fluorescenten zu halten. Bei Probe VI c gewinnen auch die Sporenbildner Bedeutung; vereinzelt treten Fäulnisbakterien auf, obwohl weder in der frischen Milch, noch im eingebrachten, benutzten Laub der Bacillus putrificus in nachweisbarer Menge zu konstatieren war. Bemerkenswert ist, daß die gasbildenden Spaltpilze des Laubes, Bact. acidi lactici und Bact. coli, in ihrer Entwicklung total zurückgeblieben sind, und daher von dieser Seite nicht die geringste schädigende Wirkung in der Milch wahrzunehmen war.

## Serie 28.

## Einwirkung frischer Laubstreu auf frische Milch.

Herstellung der Proben wie üblich. Auf 100 ccm der frischen Milch 7 kam die Impfmenge  $\frac{1}{100}$  g Laub No. 17, bzw. die Mikroflora von  $\frac{1}{100}$  g Laub. Die frische Milch war schon von Anfang an reich an Spaltpilzen (pro ccm 1 040 000), speziell reich an *Bacterium Güntheri* (77 %). Dazu kamen durch das Einbringen der Laubmikroflora pro ccm noch 6400 Keime, so daß der Gesamtkeimgehalt pro ccm geimpfte frische Milch zu Beginn des Versuches 1 046 400 betrug.

Vorprüfung. Datum der Untersuchung: 10. Januar 1912.

Bezeichnung der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VII a	12° C	24 Std.	3,8
VII b	12° C	12 Tage	17
VII c	18° C	24 Std.	3,9
VII d	18° C	8 Tage	18,5

Makroskopisch zeigten Probe VII a und VII c keinerlei Veränderung.

Bei Probe VII b war die Rahmdecke glatt und von gelblichgrüner Farbe; darunter fand sich eine  $\frac{1}{2}$  cm breite, hellgelbe Serumzone. Kasein gallertig geronnen. Geruch käsig.

Probe VII d hatte ebenfalls eine glatte, gelblichgrüne Rahmdecke mit darunter liegender, 4 mm breiter Serumzone; die Gerinnung des Kaseins war gallertig-feinflockig.

## Keimmenge pro ccm Milch:

Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamtkeimzahl
VII a	430 000	290 000	250 000	510 000
VII b	1 600 000 000	2 200 000 000	900 000 000	3 100 000 000
VII c	42 000 000	44 000 000	23 000 000	55 000 000
VII d	8 000 000 000	7 500 000 000	3 000 000 000	8 700 000 000

## Übersicht der Mikroorganismen.

Keimart	Laub No. 17 %	Frische Milch %	VII a %	VII b %	VII c %	VII d %
Kokken . . . . .	2	19	10	—	6	—
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	34	—	—	—	18	—
<i>B. putidum</i> . . . . .	—	—	34	29	4	—
<i>B. punctatum</i> . . . . .	—	—	—	42	—	6
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt)	—	2	4	—	7	—
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	—	77	30	19	49	—
<i>B. acidi lactici</i> . . . . .	19	2	22	—	9	—
<i>B. coli</i> . . . . .	19	—	—	—	—	—
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt)	17	—	—	—	—	—
<i>Bacillus megatherium</i> . . . . .	6	—	—	—	—	75
<i>B. mycoides</i> . . . . .	—	—	—	—	—	19
<i>B. putrificus</i> . . . . .	—	—	—	10	7	—
Sproßpilze . . . . .	3	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100

In den Proben VIIa und VIIb fällt uns ohne weiteres der mächtige Einfluß, den die Fluorescenten-Gruppe (*Bact. fluorescens* und *Bact. putidum*), sowie *Bact. punctatum* auf die Milch ausübten, auf.

Die Grünverfärbung der Rahmdecken, wie die Peptonisierung jener Milchproben, ist wohl diesen Arten zuzuschreiben. Das *Bact. Güntheri* der frischen Milch konnte nirgends sehr intensiv zur Geltung kommen, denn selbst in Probe VII d, wo wir es nach den bisherigen Erfahrungen am ehesten erwarten durften, war es wohl, dem hohen Säuregrade jener Milch nach zu schließen, anfänglich vorhanden gewesen, es mußte dann aber dem *Bac. megatherium* und dem *Bac. mycoides* weichen.

Deutlich sehen wir in dieser Versuchsreihe, wie die mit dem Laube eingeschleppten Bakterien mehr oder weniger bestimmend auf den Gärverlauf in der frischen Milch einzuwirken vermögen.

#### Serie 29.

#### Einwirkung frischer Laubstreu auf sterilisierte Milch.

Herstellung der Proben wie üblich. Die Impfmenge betrug  $\frac{1}{100}$  g auf 100 ccm sterile Milch, bzw. es wird die Mikroflora von  $\frac{1}{100}$  g Laub in 100 ccm sterile Milch gebracht. Im vorliegenden Falle gelangten 6400 Keime in den ccm Milch.

Vorprüfung. Datum der Untersuchung: 9. Januar 1912.

Bezeichnung der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VIII a	12° C	24 Std.	3,5
VIII b	12° C	11 Tage	8,9
VIII c	18° C	24 Std.	3,6
VIII d	18° C	7 Tage	12,8

Makroskopisches Aussehen der Milchproben:

Probe VIII a: Unverändert.

Probe VIII b: Rahmdecke der Milch gelblich-grün, grüne Randzone dem Glase entlang, darunter 4 mm mächtige, helle Serumzone, Kasein gallertig-feinflockig geronnen.

Probe VIII c: Unverändert.

Probe VIII d: Rahmdecke mancherorts blasig emporgetrieben, gelblich-grün, darunter 6 mm breite, helle Serumzone, Kasein gallertig geronnen und mit Gasblasen durchsetzt, käsiger Geruch.

#### Anzahl der Keime pro ccm Milch:

Bezeichnung der Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamtkeimzahl
VIII a	19 000	17 000	5 000	26 000
VIII b	760 000 000	750 000 000	600 000 000	900 000 000
VIII c	470 000	340 000	300 000	660 000 000
VIII d	1 500 000 000	1 600 000 000	600 000 000	1 600 000 000

Die Keimzahlen der 24 Stunden aufbewahrten Proben geben hinsichtlich Keimvermehrung, verglichen miteinander, ein erhebliches Plus zugunsten der bei 18° C aufgestellten Proben, eine Tatsache, die uns bei ähnlichen Versuchen früherer Kapitel schon oft begegnete, ohne daß wir uns veranlaßt sahen, jedesmal auf diesen Befund speziell aufmerksam zu machen. Dasselbe Verhalten zeigten auch die mehrere Tage alten Proben; da jedoch die Zeiten bis zur Untersuchung daselbst verschiedene waren, dürfen wir sie, mangels einheitlicher Voraussetzungen, nicht ohne weiteres als analoges Beispiel für die günstige Wirkung der höhern Züchtungstemperatur von 18° C auf die Bakterienentwicklung ansprechen.

Jedenfalls spricht die in die Millionen gehende Menge von Mikroben pro cem Milch der einige Tage stehen gelassenen Proben für die Zukömmlichkeit steriler Milch als Nährboden für verschiedene, in Streumaterialien vorkommende Bakterienarten.

## Übersicht der Keimarten.

Keimart	Laub No. 17 %	VIII a %	VIII b %	VIII c %	VIII d %
Kokken . . . . .	2	—	—	5	—
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	34	42	35	24	56
<i>B. herbicola aureum</i> . . . . .	—	—	—	6	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt).	—	8	—	18	—
Kurzstäbchen II, in grauen Kolonien wachsend . . . . .	—	—	39	—	—
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	—	—	7	—	44
<i>B. aërogenes</i> . . . . .	—	8	—	—	—
<i>B. acidi lactici</i> . . . . .	19	11	—	—	—
<i>B. coli</i> . . . . .	19	19	—	47	—
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt).	17	4	16	—	—
<i>Bacillus megatherium</i> . . . . .	6	—	—	—	—
Sarcinen . . . . .	—	8	—	—	—
Sproßpilze . . . . .	3	—	—	—	—
Unbekannte Arten . . . . .	—	—	3	—	—
	100	100	100	100	100

Außer dem *Bac. megatherium* und den Sproßpilzen ließen sich alle, s. Zt. in dem Laube No. 17 entdeckten Arten, in der einen oder anderen Milchprobe wiederfinden. Zu dieser Stammflora, wie wir sie nennen möchten, kam nun, begünstigt durch den ihnen gebotenen Nährboden (sterile Milch), noch eine Menge anderer Arten hinzu, die offenbar im Laub, das zur Impfung der sterilen Milch herangezogen wurde, ebenfalls vorhanden, aber infolge bescheidener Zahl prozentual nicht nachweisbar waren. Von diesen Arten seien, ihrer Quantität wegen, die in grauen Kolonien wachsenden, graue Kurzstäbchen II genannten Spaltpilze, die mit den in Serie 22 beschriebenen identisch waren, hervorgehoben, sowie das *Bact. Güntheri*, das namentlich in Probe VIIId durch gallertiges Dicklegen der Milch seine Wirksamkeit bekundete.

Die im Laub vorherrschenden Fluorescenten waren in allen Milchproben ebenfalls in größeren Quantitäten wieder zu treffen.

## Zusammenfassung der wichtigsten Untersuchungsergebnisse des Abschnittes:

## c) Einwirkung von frischem und benutztem Laub auf frische und sterilisierte Milch.

Unter dem Hinweis auf die bei den einzelnen Versuchsserien erhaltenen Resultate und der dort angebrachten Bemerkungen, fassen wir die hauptsächlichsten Untersuchungsergebnisse folgendermaßen zusammen:

1. Die Mikroflora der kleinen Quantität von  $\frac{1}{100}$  g frischen Laubes in 100 cem frische Milch verbracht, vermochte den Gärverlauf in der Milch mehr oder weniger deutlich zu beeinflussen, indem in einem Falle aus dem Laube stammende Fluorescenten und im andern *Bact. coli* gleicher Herkunft kräftige Entwicklung fanden und die Umsetzungen in der Milch un-

günstig gestalteten. In einem 2. Versuche war es ein mit der Streu eingeführter Sporenbildner (*Bact. megatherium*), der in der Flüssigkeit bei einer Aufbewahrungstemperatur von 18° C nach 48 Stunden umfassender Gärzeit nachteilig wirkte.

Hinsichtlich des Einsetzens der Vermehrung bei den in den geimpften Milchproben sich findenden Spaltpilzen ist zu bemerken, daß bei der Laubprobe 16 die Vermehrungsvorgänge sofort kräftig einsetzten, während bei Verwendung von Laubprobe 17 bei der zu 12° C gestellten Milch zunächst ein Zurückgehen des Keimgehaltes auf ca. die Hälfte und erst dann ein rapides Ansteigen der Mikroflora feststellbar war.

2. Beim Einsetzen von frischem Laub in sterilisierte Milch, in der Menge von  $\frac{1}{100}$  g auf 100 ccm, entwickelte sich in einem Falle *Bact. Güntheri*, im andern aber *Bact. fluorescens* zur herrschenden Art. Daneben fanden die gasbildenden Milchsäurebakterien (*Bact. acidilactici* und *Bact. coli*), sowie in grauen Kolonien wachsende Kurzstäbchen gute Existenzbedingungen in der Milch.

Die Vermehrung der in die Milch gebrachten Keime setzte sowohl bei 12° als bei 18° C Aufbewahrungstemperatur sofort ein.

3. Eine durch Vermengung von 95 g Exkrement-Emulsion mit 5 g Laub hergestellte, benutzte Streu, in der Menge von  $\frac{1}{10}$  bzw.  $\frac{1}{100}$  g in 100 ccm frische Milch verbracht, vermochte keinen entscheidenden Einfluß auf die Umsetzungen in der Milch auszuüben. In einer Versuchsreihe entwickelten sich in der Milch zahlreiche *herbicola*-ähnliche Kurzstäbchen, die jedoch, ihrer harmlosen Natur wegen, einer normalen Gärung der Milch nicht im Wege standen. Gewöhnlich bestimmten die in der frischen, noch ungeimpften Milch schon anwesenden *Bact. Güntheri* und Kokken den Gang der Umsetzungen in der Flüssigkeit. In einer der von uns untersuchten Proben waren neben dem *Bact. Güntheri* noch reichlich Fluorescenten, in einer anderen Probe neben den Kokken in bedeutender Zahl *Bact. subtilis* vertreten.

Was die Vermehrung der Keime in der geimpften, frischen Milch betrifft, so ist zu bemerken, daß bei Verwendung von Laub No. 16 und bei einer Aufbewahrungstemperatur von 12° C ein anfänglich stattfindendes Zurückgehen der Keimzahl in bescheidenem Maße zu beachten ist, während bei der Laubprobe No. 17, sowohl bei 12° wie bei 18° C, ein starkes Dezimieren der Keime festgestellt wurde.

4. In den mit benutzter Laubstreu geimpften, sterilen Milchproben entwickelten sich in einem Falle zur Hauptsache gasbildende Milchsäurebakterien und Kokken, bei der anderen Versuchsserie dagegen, neben *Bact. acidilactici* und *Bact. coli* bei 12° C die Fluorescenten kräftig.

Bei Verwendung von Laubprobe No. 17 in benutztem Zustande setzte die Vermehrung der Spaltpilze in der Milch sowohl bei 12°, als bei 18° C sofort ein, bei Laubprobe 16 dagegen blieb die Keimzahl bei 12° C die ersten 12 Stunden gleich groß, bei 18° C aber ist sofort sehr rasche Vermehrung der Spaltpilze zu konstatieren.

5. Wird benutzte Laubstreu bei 18° C aufbewahrt, so zeigt sich bei Verwendung von Probe 16 alsbald eine kräftige Keimvermehrung, die sofort ziemlich intensiv einsetzt. Bei Probe 17 ist in den ersten 12 Stunden kaum Vermehrung zu konstatieren, dann aber geht der Vermehrungsquotient rasch in die Höhe.

Als dominierend auftretende Bakterienarten sind zu nennen: *Bact. acidilactici*, *Bact. coli*, Kokken und *Bact. Güntheri*.



#### 4. Untersuchungen an Sägemehl.

##### A. Bisherige Forschungsergebnisse.

Ein weit verbreitetes Einstreumittel ist das als Nebenprodukt der Holzsägerei gewonnene Sägemehl. Die Aufsaugungskraft des Sägemehls ist, nach Versuchen von Breitenlohner<sup>1)</sup>, eine sehr große, größer als beispielsweise diejenige von Roggenstroh oder Schwarzstreu, variiert jedoch nach dem jeweiligen Feuchtigkeitsgehalte des Mehles.

Nach Stebler (76) enthalten 1000 Gewichtsteile Fichtenstammholz folgende Pflanzennährstoffe:

Stickstoff . . .	1—1,5 Teile
Phosphorsäure . . .	0,01 „
Kali . . . . .	0,03—0,04 „

Der Düngewert ist somit gering. Sägemehl wird seltener allein, als vielmehr in Mischung mit Stroh und Schwarzstreu zum Einstreuen verwendet.

In der Literatur treffen wir wohl Angaben über die bei der Zersetzung von Sägemehl im Boden tätigen Mikroorganismen und die damit verknüpften chemischen Umwandlungsprozesse, wie sie die Humusbildung aus Zellulose voraussetzt, doch sind uns eingehendere Untersuchungen über die Bakterienflora frischen und gelagerten Sägemehles nicht bekannt geworden.

##### B. Untersuchung einzelner Sägemehlproben.

Im März 1911 wurden von uns 14, aus verschiedenen Teilen der Schweiz eingesandte Sägemehlproben bakteriologisch untersucht.

Die bakteriologische Prüfung führten wir bei den einzelnen Proben folgendermaßen durch: 4 g durchgemergtes Material wurden mit 400 ccm sterilem Wasser im ausgeflamten Tiegel innig vermengt und tunlichst zerrieben. Dabei bewährte sich die von uns in Anwendung gebrachte Vorsichtsmaßregel sehr, wobei zum Sägemehl vorerst nur wenig steriles Wasser zugefügt wurde, um ein kräftiges Bearbeiten des Gemenges von Sägemehl und Wasser zu ermöglichen und erst nachträglich die zu den 400 ccm noch fehlende Wassermenge zur Verwendung gelangte. Von der so erhaltenen Aufschwemmung stellten wir die für unsere Zwecke geeigneten, dezimal gehaltenen Verdünnungen her und impften damit die sich als günstig erweisenden Nährböden: Nährgelatine, Nähragar und Milchzuckeragar. Von den beiden zuerst genannten Nährböden wurden Plattenkulturen, mit dem zuckerhaltigen Agar dagegen hohe Schicht-Kulturen nach Burri hergestellt. Die Aufbewahrung der Kulturarten geschah bei Zimmertemperatur 16—18° C (für Gelatineplatten), 30° (für die Agarplatten) und 37° C (für die hohen Schichten).

In diesem und den folgenden Kapiteln sind wir von dem bisherigen Modus, jede Probe einzeln für sich zu besprechen, der Kürze halber, abgewichen, indem wir nun jeweils, anschließend an die zusammenfassenden Keimzahl- und Keimartentabellen, eine zusammenhängende Besprechung der erhaltenen Resultate anknüpfen.

Den Untersuchungsergebnissen voranstellend geben wir eine

<sup>1)</sup> Breitenlohner zitiert nach Stebler (76).

## Zusammenstellung über die Herkunft der Sägemehlproben.

No. der Probe	Herkunft
1	Meilen, Kt. Zürich
2	Zollikofen, Kt. Bern
3	Greng b./Murten, Kt. Freiburg
4	Greng b./Murten, Kt. Freiburg
5	Thun, Kt. Bern
6	Oerlikon b./Zürich
7	Walzenhausen, Kt. Appenzell
8	Lenzburg, Kt. Aargau
9	Therwil, Kt. Basel Ld.
10	Zeglingen, Kt. Basel Ld.
11	Bulle, Kt. Freiburg
12	Le Locle, Kt. Neuenburg
13	Grindelwald, Kt. Bern
14	Bremgarten, Kt. Aargau

Hinsichtlich des Aussehens der teils aus Rot-, teils aus Weißtannenholz-Sägemehl bestehenden Proben ist zu bemerken, daß, mit Ausnahme von Probe 1, die schwach schmutzige Verfärbung zeigte, nirgends etwas Auffälliges zu konstatieren war.

Keimzahl-Tabelle der Sägemehlproben.

No. der Probe	Auf den Gelatineplatten Keime pro g	Auf den Agarplatten Keime pro g	In den Milchzuckeragar hohen Schichten Keime pro g	Gesamtkeimzahl pro g
1	120 000	130 000	350 000	480 000
2	380 000	1 400 000	50 000	1 450 000
3	1 280 000	1 200 000	90 000	1 800 000
4	120 000 000	65 000 000	19 000 000	138 000 000
5	67 000 000	54 000 000	—	78 000 000
6	850 000	350 000	250 000	1 000 000
7	60 000	65 000	60 000	136 000
8	1 500 000	1 700 000	—	2 900 000
9	2 800 000	9 00 000	—	3 400 000
10	17 000 000	12 000 000	—	20 000 000
11	520 000	15 000	90 000	610 000
12	27 000	1 000	300	27 300
13	15 000	2 000	2 500	19 500
14	73 000 000	130 000 000	10 000 000	183 000 000

## Besprechung der Resultate der Keimzahl-Tabelle.

Während Probe 13 mit einer Gesamtkeimzahl von 19500 pro g am wenigsten Mikroben aufzuweisen hatte, erreichte die folgende Probe 14 mit 183 Millionen in gleicher Menge Sägemehl das Maximum an Keimen. Im Durchschnitt stellte sich die Keimzahl aller Sägemehlproben auf 30 773 000 Keime prog. Verglichen mit anderen Streumaterialien, ist Sägemehl relativ keimarm.

Beim Zersägen von Baumstämmen wird die Hauptmasse des Sägemehles von den inneren Partien des Holzkörpers geliefert, die, insofern es sich um gesunde Stämme handelt, keimfrei sein dürften. Als Infektionsquelle für Mikroben kommen somit in erster Linie nur die äußeren Rindenpartien der Hölzer in Betracht. Die Kontaktinfektion durch das Sägeblatt darf als unbedeutend

Keimarten-Tabelle der Sägemehlproben.

No. der Sägemehlprobe	Kokken	Bact. herbicola	Gelber Säurebildner	Kurzstäbchen 1	Kurzstäbchen 2	Bact. fluorescens	Bact. putidum	Bact. Güntheri	Bact. aërogenes	Bact. coli	Bact. megatherium	Bac. mesentericus	Bac. putrificus	Aktinomyceten	Sproßpilze	Mycelpilze	Unbekannte Arten	Total
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1	15	—	—	—	—	7	—	—	—	—	2	—	58	—	—	27	—	100
2	52	—	—	—	—	22	—	—	—	22	—	—	4	—	1	34	—	100
3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	34	—	100
4	37	—	2	—	—	—	—	—	49	3	—	1	8	—	—	—	—	100
5	13	—	—	7	4	—	—	—	—	—	—	—	—	5	63	8	—	100
6	15	—	—	15	—	—	—	—	—	85	—	—	—	—	29	—	—	100
7	44	5	—	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—	59	—	—	100
8	14	—	—	17	—	15	10	—	—	—	—	—	—	—	15	—	—	100
9	—	—	—	—	—	15	53	—	—	—	—	—	—	—	85	—	—	100
10	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	85	—	—	100
11	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
12	7	—	—	7	—	15	—	7	—	—	—	—	—	—	70	—	—	100
13	2	—	—	—	—	3	—	—	—	—	5	—	—	—	77	—	—	100
14	4	—	—	20	—	55	—	13	—	—	—	—	1	—	20	—	—	100

\*8

angesehen werden, da einerseits das Metall den Bakterien nicht die notwendigen Lebensbedingungen bietet, und andererseits durch den Sägeprozeß das Sägeblatt eine so kräftige Erwärmung erfährt, daß es voraussichtlich sterilisiert wird und ein gedeihliches Fortkommen von Keimen darauf nicht anzunehmen ist. Diese Erwägungen legen nun den Schluß nahe, und die Untersuchungen bestätigen dies auch, daß frisch gewonnenes Sägemehl ziemlich keimarm ist. Erst nachträglich beim Lagern können wir eine Keimvermehrung beobachten, da als neue Infektionsquellen Boden und Wände des Aufbewahrungsraumes, sowie die darin befindliche Luft hinzutreten. Obwohl Sägemehl, namentlich gut getrocknetes, seiner hauptsächlich aus Holzstoff und Cellulose bestehenden Bestandteile wegen, den Bakterien keinen günstigen Nährboden darbietet, so vermögen doch die von den Rindenpartien des Holzes eingeschleppten Keime, sowie die nachträglich aus der Luft sedimentierten und von anderen Infektionsquellen zugetretenen Spaltpilze einigermaßen zu gedeihen, wenn die Lagerung keine zu trockene ist.

### Besprechung der Resultate der Keimarten-Tabelle (siehe p.115)

In den 14 von uns untersuchten Sägemehlproben trafen wir:

1. Kokken . . . . .	12-mal
2. Sproßpilze . . . . .	10-mal
3. <i>Bacterium fluorescens</i> (Flügge) L. et N. . . . .	8-mal
4. Kurzstäbchen 1. (Näheres siehe unten) . . . . .	5-mal
5. Mycelpilze . . . . .	} je 4-mal
<i>Bacillus putrificus</i> Bienstock . . . . .	
6. <i>Bacterium Güntheri</i> L. et N. . . . .	} je 3-mal
<i>B. coli</i> (Escherich) L. et N. . . . .	
7. <i>B. herbicola</i> Burri et Duggeli . . . . .	} je 2-mal
<i>B. putidum</i> (Flügge) L. et N. . . . .	
<i>Bacillus megatherium</i> De Bary . . . . .	
8. Gelber Säurebildner Levy . . . . .	} je 1-mal
Kurzstäbchen 2. (Näheres siehe unten) . . . . .	
<i>Bacterium aërogenes</i> (Escherich) L. et N. . . . .	
<i>Bacillus mesentericus</i> (Flügge) L. et N. . . . .	
Aktinomyceten . . . . .	
Unbekannte Arten . . . . .	

Unter den im Sägemehl gefundenen Keimarten begegneten uns am häufigsten Kokken, und zwar die gewöhnlichen Mikrokokken der Luft, ein einziges Mal eigentliche Streptokokken, die, in Milch geimpft, sich daselbst indifferent verhielten.

Besonders aufgefallen ist uns die große Zahl von Sproßpilzen, *Saccharomyceten* und *Torula*-Arten, die in vielen Fällen mehr als die Hälfte der gesamten Mikroflora ausmachten.

Diese Beobachtung erklären wir uns folgendermaßen: Nach den Untersuchungen von Hansen (37) sind die *Saccharomyceten* zu allen Jahreszeiten beinahe überall in der Erde nachweisbar. Der Erdboden der Gärten und Weinberge ist am reichsten an *Saccharomyceten*, hier haben sie ihren normalen Winteraufenthaltort. Außer in Erde, hat Hansen (38) diese Sproßpilze später auch auf den Stämmen der meisten unserer Bäume angetroffen, wo sie in den von Moosen, Flechten und grünen Algen gebildeten Polstern ziemlich günstige Bedingungen für ihr Fortkommen finden. Da die Rindenpartien der Bäume, wie wir hörten, eine der wesentlichsten Infektionsquellen für Sägemehl sind, ist es uns erklärlich, weshalb die *Saccharomyceten* in vielen Fällen geradezu den Grundstock der Sägemehl-Mikroflora bilden können.

Häufig begegneten wir in den an Saccharomyceten reichen Proben auch den Fluorescenten. Der relativ hohe Feuchtigkeitsgehalt der Sägemehlproben No. 1, 2, 3 und 4 kam auch in der Zusammensetzung der vorkommenden Mikroorganismenflora zum Ausdruck, da 3 Proben reichlich Mycelpilze enthielten. Probe 1 erweckte ihrem Aussehen nach nicht den Eindruck des Frischseins, obwohl die Bezeichnung des Übersenders dermaßen lautete. Auch der hohe Prozentsatz der darin sich findenden Keime des *Bac. putrificus* ließ die Vermutung aufkommen, daß dieses Mehl verunreinigt wurde, sei es auch in unbeabsichtigter Weise, vielleicht durch Katzen oder andere herumstreifende Haustiere. Die große Zahl von *Aërogenes*- und *Coli*-bakterien in den Proben No. 4 und 6 ist möglicherweise gleichfalls einer sekundären Verunreinigung zuzuschreiben.

Nur in bescheidenem Maße fanden wir auf den Nährböden Kolonien von *Bact. Güntheri*, *Bact. herbicola aureum*, *Bact. putidum*, ferner vom Gelben Säurebildner, von Sporenbildnern, Aktinomyceten und einigen anderen Arten.

Das in der Tabelle als Kurzstäbchen 1 bezeichnete *Bacterium* war ein lebhaft bewegliches Stäbchen, das in seiner Form und in seinem physiologischen Verhalten ziemlich mit *Bacterium prodigiosum* (Ehrenberg) L. et N. übereinstimmte, sich von diesem jedoch dadurch unterschied, daß es grampositiv war und auf den Gelatine- und Agarnährböden, wie in der Milch, mehr orangerötliche Farbtöne hervorrief. Auf Kartoffeln zeigte dieser Mikroorganismus nur spärliches Wachstum.

Kurzstäbchen 2 konnte seinem kulturellen Verhalten nach am ehesten mit *Bact. flavum* (Fuhrm.) L. et N. identifiziert werden, zeigte aber, in Abweichung von dieser Spezies, Färbbarkeit nach der Gramschen Methode.

### C. Einwirkung frischen und benutzten Sägemehles auf frische und sterilisierte Milch.

#### a) Versuche mit Sägemehlprobe No. 6.

Als Ausgangsmaterial der folgenden Versuchsreihen diente uns die Sägemehlprobe No. 6, die bei einer Gesamtkeimzahl von 1 Million Bakterien pro g 85 % *Bacterium coli* und 15 % Kokken enthielt, somit reichlich mit Gasbildnern versehen war, und sich daher voraussichtlich sehr gut für unsere Zwecke eignete.

Die Anordnung der einzelnen Serien, wie die Herstellung der Proben, war die übliche; wir verweisen diesbezüglich auf das in früheren Kapiteln Mitgeteilte.

#### Serie 30.

### Die Mikroflora benutzten Sägemehles verschiedenen Alters.

Der bakteriologische Befund der frischen Exkrement-Emulsion 12 war folgender:

Auf den Gelatineplatten. . . . .	3 000 000	Keime pro g
Auf den Agarplatten . . . . .	4 300 000	„ „ „
In den Milchzuckeragar hohen Schichten	1 500 000	„ „ „
Gesamtkeimzahl . . . . .	7 500 000	„ „ „
Davon waren:		
Aktinomyceten . . . . .	24 %	
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . .	20 %	
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	20 %	
Mycelpilze . . . . .	13 %	
Kokken . . . . .	10 %	
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . .	6 %	
<i>B. subtilis</i> . . . . .	4 %	
<i>B. mycoides</i> . . . . .	3 %	
	100 %	

Zur Herstellung der benutzten Sägemehl-Streu verwendeten wir 95 g der Exkrement-Emulsion 12 und 5 g der Sägemehlprobe No. 6.

Diese Mischung von 100 g benutzter Streu hatte folgende bakteriologische Zusammensetzung:

Aktinomyeten . . . . .	171 000 000 =	23 %
Bacterium acidilactici . . .	142 500 000 =	20 %
B. Güntheri . . . . .	142 500 000 =	20 %
Mycelpilze . . . . .	95 000 000 =	13 %
Kokken . . . . .	67 250 000 =	9 %
Bacillus mesentericus . . . .	47 500 000 =	7 %
B. subtilis . . . . .	28 500 000 =	4 %
B. mycoides . . . . .	19 000 000 =	3 %
Bacterium coli . . . . .	4 250 000 =	1 %
	<hr/>	
	717 500 000 =	100 %.

1 g der frisch hergestellten benutzten Streu enthielt 7 175 000 Keime.

Dieses benutzte Sägemehl wurde in 3 Portionen geteilt, zu 18° C gestellt und nach 12, 24, bzw. 48 Stunden untersucht.

Die bei der bakteriologischen Prüfung der aufbewahrten benutzten Streu gewonnenen Resultate sind folgende:

Benutzte Streu, 12 Stunden bei 18° C aufbewahrt.

Untersucht am 8. Juni 1911. Befund:

Bacterium Güntheri . . . . .	6 500 000	Keime pro g =	65 %
Bacillus subtilis . . . . .	1 800 000	„ „ „ =	18 %
Aktinomyeten . . . . .	500 000	„ „ „ =	5 %
Bacterium acidilactici . . . .	400 000	„ „ „ =	4 %
Bacillus mycoides . . . . .	300 000	„ „ „ =	3 %
Mycelpilze . . . . .	300 000	„ „ „ =	3 %
Bacillus mesentericus . . . .	200 000	„ „ „ =	2 %

Gesamtkeimzahl . . . . . 10 000 000 Keime pro g = 100 %.

Benutzte Streu, 24 Stunden bei 18° C aufbewahrt.

Untersucht am 9. Juni 1911. Befund:

Bacterium Güntheri . . . . .	120 000 000	Keime pro g =	70 %
Kokken . . . . .	30 000 000	„ „ „ =	17 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . .	20 000 000	„ „ „ =	11 %
Bacillus subtilis . . . . .	2 000 000	„ „ „ =	1 %
Bacterium acidilactici . . . .	2 000 000	„ „ „ =	1 %

Gesamtkeimzahl . . . . . 174 000 000 Keime pro g = 100 %.

Benutzte Streu, 48 Stunden bei 18° C aufbewahrt.

Untersucht am 10. Juni 1911. Befund:

Bacterium acidilactici . . . .	610 000 000	Keime pro g =	48 %
Kokken . . . . .	250 000 000	„ „ „ =	19 %
Bacterium aërogenes . . . .	170 000 000	„ „ „ =	13 %
B. Güntheri . . . . .	160 000 000	„ „ „ =	12 %
B. coli . . . . .	50 000 000	„ „ „ =	4 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . .	50 000 000	„ „ „ =	4 %

Gesamtkeimzahl . . . . . 1 290 000 000 Keime pro g = 100 %.

Durch das Aufbewahren des benutzten Sägemehls bei 18° C wurde in den ersten 12 Stunden der Gärung kein bedeutendes Ansteigen der Keimzahl erreicht, indem dieselbe von 7,175 Mill. nur auf 10 Mill. stieg.

Dabei wiesen aber *Bac. subtilis* und *Bact. Güntheri* kräftige Vermehrung auf, während *Bac. mycoides* nur unbedeutend sich vermehrte. Die *Aktinomyeten*, *Bact. acidilactici*, *Bac. mesentericus*, die *Mycelpilze*, die *Kokken* und *Bact. coli* gingen in der Keimmenge stark zurück, die beiden letztgenannten Spaltpilzarten sogar so in-

tensiv, daß sie in den angelegten Verdünnungen gar nicht mehr zu konstatieren waren.

Nach 24 Stunden umfassender Gärzeit ist die Zahl der Keime von 10 auf 174 Mill. pro g gestiegen, wobei *Bact. Güntheri*, Kokken, *Bact. acidilactici* und nicht näher studierte Kurzstäbchen die Mikroflora zusammensetzten.

Nach 48 Stunden ist die Keimzahl weiter gestiegen, und dabei haben speziell *Bact. acidilactici*, *Bact. coli* und das neu auftretende *Bact. aërogenes* eine kräftige Vermehrung erfahren.

### Serie 31.

#### Einwirkung von benutztem Sägemehl auf sterilisierte Milch.

Herstellung der Proben wie üblich. Impfmenge vom vorstehend charakterisierten Streu-Exkrement-Emulsion-Gemisch jeweils  $\frac{1}{10}$  g auf 100 ccm sterile Milch, bzw. Einimpfen der Mikroflora von  $\frac{1}{10}$  g benutzten Sägemehles in 100 ccm sterile Milch. Durch das Impfen wurden pro ccm Milch 7175 Keime eingebracht.

Vorprüfung. Datum der Untersuchung: 8. Juni 1911.

Bezeichnung der Proben . .	IV a	IV b	IV c	IV d	IV e	IV f
Aufbewahrungstemperatur .	12°	12°	12°	18°	18°	18°
Zeit bis zur Untersuchung .	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH	5,5	4,6	5,2	5,6	4,7	8,2
Makroskopisches Aussehen .	Bei allen Proben unverändert.					

#### Keimzahlen pro ccm Milch.

Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamtkeimzahl
IV a	2 500	2 000	4 000	6 900
IV b	450 000	550 000	170	700 000
IV c	850 000	1 500 000	30 000 000	31 630 000
IV d	600	1 500	1 200	2 700
IV e	700 000	400 000	300 000	1 060 000
IV f	490 000 000	400 000 000	300 000 000	490 000 000

#### Übersicht der Keimarten.

Keimart	Benutzte Streu %	IV a %	IV b %	IV c %	IV d %	IV e %	IV f %
Kokken . . . . .	9	7	—	2	15	5	—
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	—	—	—	—	—	—	4
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	20	51	—	94	30	29	—
<i>B. acidi lactici</i> . . . . .	20	5	79	3	—	48	96
<i>B. coli</i> . . . . .	1	—	—	1	—	9	—
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	7	8	21	—	15	9	—
<i>B. subtilis</i> . . . . .	4	—	—	—	22	—	—
<i>B. mycoides</i> . . . . .	3	—	—	—	11	—	—
Aktinomyceten . . . . .	23	18	—	—	7	—	—
Mycelpilze . . . . .	13	11	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100	100

Die mikrofloristische Zusammensetzung der 12 Stunden aufgestellten Proben zeigte sowohl bei 12 als bei 18° C noch ziemlich die Mannigfaltigkeit, wie wir sie bei der frischen benutzten Streu getroffen haben, doch machte sich immerhin schon während der relativ kurzen Aufbewahrungszeit die elektive Wirkung des Nährmediums, der sterilen Milch, bemerkbar. Die echten Milchsäurebakterien vom Typus des *Bact. Güntheri* suchen rasch die Oberhand zu gewinnen. Bei Probe IVd drängen sich außerdem die Sporenbildner stark hervor.

Nach 24 und 48 Stunden ist das Bild schon wesentlich anders. Zugleich mit der Reduktion der Artenzahl, findet eine Konzentration auf bestimmte Bakteriengruppen statt. Während in den Proben IVb, IVe und IVf *Bact. acidilactici* vorherrschend ist, bestreitet bei Probe IVc das *Bact. Güntheri* den Hauptanteil an der Mikroflora. Nur in spärlicher Zahl konnte das *Bact. coli*, das im Sägemehl so zahlreich war, nachgewiesen werden.

Während der Säuregrad der ungeimpften, sterilen Milch 3,5 ccm n/10 NaOH betrug, ist er bei den einzelnen Proben stets höher, wie die Resultate der Vorprüfung erkennen lassen. Überall hat in wechselnden Mengen Säureproduktion stattgefunden, die aber keineswegs mit fortschreitender Zeit stets zunimmt.

Hinsichtlich der Vermehrung der durch das Impfen in die sterile Milch gebrachten Keime ist zu bemerken, daß bei 12° nach 12 Stunden ein schwaches, bei 18° C aber ein starkes Zurückgehen der Keimmenge eintrat, worauf dann intensive Vermehrung einsetzte.

### Serie 32.

#### Einwirkung benutzten Sägemehles auf frische Milch.

Herstellung der Proben wie üblich. Auf 100 ccm frische Milch kam eine Impfmenge von  $\frac{1}{10}$  g benutztes Sägemehl, bzw. die Mikroflora genannter Menge.

Bevor zum eigentlichen Versuche geschritten wurde, gelangte sofort nach der Probeentnahme die frische Milch 8 und die Exkrememente-Emulsion 13 zur bakteriologischen Untersuchung, wobei folgender Befund resultierte:

**Frische Milch 8.** Datum der Untersuchung: 14. Juni 1911.  
Säuregrad: 3,3 ccm n/10 Na OH. Befund:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	24 000	Keime pro ccm
Auf den Agarplatten . . . . .	100 000	„ „ „
In den Mzkag. hohen Schichten . . . . .	36 100	„ „ „
Im Gesamten . . . . .	121 000	„ „ „

#### Keimarten:

<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	30	%
Kokken . . . . .	29	%
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	21	%
Kurzstäbchen (nicht weiter studiert) . . . . .	10	%
<i>Bacterium aërogenes</i> . . . . .	8	%
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	2	%
	100	%

**Exkrememente-Emulsion 13.** Datum der Untersuchung: 14. Juni 1911.  
Befund:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	410 000	Keime pro g
Auf den Agarplatten . . . . .	300 000	„ „ „
In den Mzkag. hohen Schichten . . . . .	1 000 000	„ „ „
Im Gesamten . . . . .	1 550 000	„ „ „



## Keimarten:

Kokken . . . . .	69 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	19 %
<i>B. megatherium</i> . . . . .	6 %
<i>B. mycoides</i> . . . . .	2 %
Aktinomyeten . . . . .	2 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	1 %
<i>B. coli</i> . . . . .	1 %
	100 %

95 g der Exkrement-Emulsion 13 und 5 g der Sägemehlprobe No. 6 durchmischt, ergaben 100 g benutzte Streu, die wir zur Impfung der frischen Milch 8 benutzten.

In 100 g frisch zubereiteter benutzter Streu konnten wir folgende Mikroorganismen nachweisen:

Kokken . . . . .	102 400 000 =	67 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	27 550 000 =	18 %
<i>B. megatherium</i> . . . . .	8 550 000 =	6 %
<i>Bacterium coli</i> . . . . .	6 150 000 =	4 %
<i>Bacillus mycoides</i> . . . . .	2 850 000 =	2 %
Aktinomyeten . . . . .	2 850 000 =	2 %
<i>Bacterium acidilactici</i> . . . . .	1 900 000 =	1 %
Gesamtkeimzahl . . . . .	152 250 000 =	100 %

Es enthielt somit 1 g benutzte Streu 1 522 500 Keime.

Durch das Impfen der frischen Milch mit benutzter Streu wurden ersterer 152 250 Keime pro ccm zugefügt, so daß die Milch zu Beginn der Versuche total 273 250 Mikroorganismen im ccm barg.

Die Untersuchung der geimpften zu 12° bzw. 18° C gestellten Milchproben ergab folgende Resultate:

## Vorprüfung:

Bezeichnung der Proben . . . . .	VI a	VI b	VI c	VI d	VI e	VI f
Aufbewahrungstemperatur . . . . .	12°	12°	12°	18°	18°	18°
Zeit bis zur Untersuchung . . . . .	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in ccm n/10 Na OH . . . . .	3,3	3,4	3,5	3,4	5,7	15,4

Einzig bei der Probe VI f war das makroskopische Aussehen verändert, indem die Flüssigkeit gallertige Gerinnung zeigte; die übrigen Proben waren unverändert.

## Anzahl der Keime pro ccm Milch:

Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamt-Keimzahl
VI a	45 000	65 000	200 000	273 000
VI b	170 000	170 000	200 000	200 000
VI c	—	—	20 000 000	20 000 000
VI d	10 000 000	7 300 000	500 000	11 300 000
VI e	370 000 000	550 000 000	70 000 000	690 000 000
VI f	500 000 000	870 000 000	480 000 000	870 000 000

Während bei 12° C nach 12 Stunden die Keimzahl annähernd gleich groß sich erweist, wie in der frisch geimpften Milch, dabei aber schon eine Verschiebung der Mikroflora der Milch zugunsten des *Bact. Güntheri* eingetreten ist, so ist nach 24 Stunden dauerndem Aufenthalt die Keimmenge deutlich kleiner geworden, wobei die gasbildenden Milchsäurebakterien die Spaltpilzflora beherrschen. Bei 18° C setzt in der geimpften Milch die Vermehrung der Keime sofort ein.

## Übersicht der Keimarten.

Keimart	Benutzte Streu %	Frische Milch %	VI a %	VI b %	VI c %	VI d %	VI e %	VI f %
Kokken . . . . .	67	29	7	—	—	—	—	—
Bacterium fluorescens . . .	—	—	3	—	—	—	—	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	—	10	—	—	—	—	—	—
Bacterium Güntheri . . .	—	30	73	—	35	12	10	100
B. aërogenes . . . . .	—	8	—	—	—	—	—	—
B. acidi lactici . . . . .	1	21	13	85	65	88	80	—
B. coli . . . . .	4	—	4	15	—	—	10	—
Bacillus megatherium . . .	6	—	—	—	—	—	—	—
B. mesentericus . . . . .	18	2	—	—	—	—	—	—
B. mycoides . . . . .	2	—	—	—	—	—	—	—
Aktinomyceten . . . . .	2	—	—	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100	100	100

Aus der Durchsicht vorstehender Keimarten-Tabelle gewinnen wir den Eindruck, daß von einer Beeinflussung des Gärverlaufes in der frischen Milch durch die mit dem Sägemehl und der Exkr.-Emulsion eingebrachten Bakterien in unserem Falle kaum die Rede sein kann. Dreimal begegnete uns in den Proben das *Bact. coli*, aus der benutzten Streu stammend, während die Kokken, die sowohl in der frischen Milch als auch im Impfmaterial stark vertreten waren, merkwürdigerweise in kurzer Zeit nicht mehr nachweisbar sind. Von den Sporenbildnern der Exkrement-Emulsion war nichts mehr zu entdecken.

In allen Proben sind es das *Bact. Güntheri* und das *Bact. acidi lactici*, die mit wechselndem Erfolg beinahe allein den Kampf um die Vorherrschaft führen. Während Probe VI b ganz von gasbildenden Milchsäurebakterien bewohnt ist, trägt in Probe VI f *Bact. Güntheri* den Sieg davon, indessen in den anderen Proben sich bald die eine, bald die andere Art mehr Geltung verschaffen konnte.

## Serie 33.

## Einwirkung von frischem Sägemehl auf frische Milch.

Dieselbe frische Milch 8, die in der letzten Serie benutzt wurde, kam auch hier zur Verwendung. Die Herstellung der Proben erfolgte in gewohnter Weise. Je 100 ccm frische Milch wurden mit  $\frac{1}{10}$  g Sägemehl, bzw. mit der in dieser Menge enthaltenen Mikroflora, geimpft.

Durch das Impfen mit Sägemehl wurden zu der pro ccm Milch schon 121 000 Keime betragenden Mikroflora noch weitere 1000 Mikroben zugefügt, so daß die Gesamtkeimzahl pro ccm geimpfte Milch zu Beginn der Versuche 122 000 betrug.

## Vorprüfung.

Bezeichnung der Probe	Aufbewahrungs- Temperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VII a	12° C	24 Std.	3,3
VII b	12° C	10 Tage	18,4
VII c	18° C	24 Std.	5,1
VII d	18° C	6 Tage	19,6

Das makroskopische Aussehen der Probe VIIa war unverändert.

Bei Probe VIIb war die Rahmdecke dicht mit *Oidium lactis* überzogen. Unter dieser lag eine 4 mm dicke, gelbliche Serumzone, das Casein war feinflockig geronnen, der Geruch käsig und der Geschmack etwas bitter.

Probe VIIc war unverändert.

In Probe VIId war die Milch fest käseartig geronnen. Das Ganze bildete einen in Serum schwimmenden, zusammenhängenden Kuchen, wobei die Rahmschicht mit *Oidium lactis* überzogen war.

#### Keimmenge pro ccm Milch:

Bezeichnung der Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamt-Keimzahl
VII a	14 000	25 000	50 000	50 0000
VII b	370 000 000	450 000 000	120 000 000	590 000 000
VII c	260 000 000	300 000 000	60 000 000	360 000 000
VII d	110 000 000	110 000 000	80 000 000	190 000 000

Bei 18° C setzte also sofort eine sehr kräftige Vermehrung der Keime in der Milch ein, wobei aber offenbar bald eine Maximalzahl erreicht wurde, denn nach 6 Tagen war die Keimmenge auf rund die Hälfte derjenigen nach 24 Stunden zurückgegangen. Bei 12° C Aufbewahrungstemperatur ging die Zahl der Mikroorganismen in den ersten 12 Stunden bedeutend zurück, um dann einer starken Vermehrung obzuliegen.

#### Zusammenstellung der Bakterienarten.

Keimart	Sägemehl No. 6 %	Frische Milch %	VII a %	VII b %	VII c %	VII d %
Kokken . . . . .	15	29	—	—	—	—
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	—	—	—	43	—	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt)	—	10	—	—	—	—
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	—	30	40	20	17	42
<i>B. aërogenes</i> . . . . .	—	8	—	—	—	—
<i>B. acidilactici</i> . . . . .	—	21	60	37	83	50
<i>B. coli</i> . . . . .	85	—	—	—	—	—
<i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	—	2	—	—	—	—
Mycelpilze . . . . .	—	—	—	—	—	8
	100	100	100	100	100	100

Die Befunde dieser Serie stimmen mit denen der vorherigen insofern überein, als wir wieder als hauptsächlichste Vertreter der Mikroflora das *Bact. Güntheri* und das *Bact. acidilactici* in den Proben antreffen.

Das aus der frischen Milch stammende *Bact. Güntheri* ist als die Ursache der gallertigen Gerinnung der Milchproben VIIb und VIId anzusehen. Die starke Serumausscheidung in Probe VIIb ist wohl der Tätigkeit der darin reichlich vorgefundenen Fluorescenten, deren Herkunft aus Sägemehl oder aus Milch nicht sicher festgestellt werden kann, zuzuschreiben.

Ein nachweisbarer Einfluß der Streu-Infektion auf die Umsetzungen in den aufbewahrten Milchproben ist auch in dieser Serie nicht zu konstatieren.

## Serie 34.

## Einwirkung von frischem Sägemehl auf sterilisierte Milch.

Jede 100 ccm sterile Milch enthaltende Probe wurde mit  $\frac{1}{10}$  g Sägemehl, bzw. mit der darin enthaltenen Mikroflora geimpft. Aufbewahrungszeit- und -temperatur sind die früher angegebenen, ebenso die Zahl der Proben. Durch das Impfen wurden der Milch pro ccm 1000 Keime einverleibt und zwar 150 Kokken und 850 *Bacterium coli*.

Vorprüfung. Datum der Untersuchung: 22. Juni 1911.

Bezeichnung der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VIII a	12° C	24 Std.	4,2
VIII b	12° C	10 Tage	8,7
VIII c	18° C	24 Std.	6
VIII d	18° C	6 Tage	12,5

## Makroskopisches Aussehen der Milchproben:

Proben VIII a und VIII c waren unverändert.

Probe VIII b zeigte unter der festen, von einigen Gasblasen durchsetzten Rahmdecke, eine grünlich schimmernde, 3 mm mächtige Serumzone; das Casein war teilweise feinflockig ausgeschieden.

Probe VIII d: Rahmdecke intakt, darunter 5 mm dicke, trüb gelbliche Serumausscheidung; Casein feinflockig bis gallertig geronnen.

Geruch der Milch an Vanille erinnernd, Geschmack stark sauer.

## Keimmenge pro ccm Milch.

Bezeichnung der Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamt-Keimzahl
VIII a	340	530	600	800
VIII b	—	1250 000 000	150 000 000	1 350 000 000
VIII c	200 000 000	150 000 000	30 000 000	230 000 000
VIII d	400 000 000	400 000 000	270 000 000	420 000 000

Bei 12° C bleibt die Keimzahl in der geimpften Milch zunächst gleich, bzw. geht etwas zurück, um dann sehr hoch anzuschwellen; bei 18° C dagegen setzt die Vermehrung der Spaltpilze alsbald kräftig ein und erreicht eine bedeutende Höhe.

## Übersicht der Keimarten.

Keimart	Sägemehl %	VIII a %	VIII b %	VIII c %	VIII d %
Kokken . . . . .	15	—	7	—	—
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	—	—	93	—	5
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	—	38	—	—	—
<i>B. acidi lactici</i> . . . . .	—	12	—	87	—
<i>B. coli</i> . . . . .	85	38	—	—	95
<i>Bacillus putrificus</i> . . . . .	—	12	—	13	—
	100	100	100	100	100

Obiger Versuch lehrt deutlich, wie eine stattliche Zahl von Bakterienarten bei der Untersuchung der Streu unserm Nachweise entgehen kann, indem sie entweder auf den angewandten Nährböden nicht wachsen, oder aber, was viel wahrscheinlicher ist, im Sägemehl in so kleiner Quantität vorkommen, daß ihr prozentualer Nachweis mit Hilfe der in Anwendung gebrachten

Untersuchungsmethoden und der notwendigen Verdünnungen nicht gelingt. So treffen wir in unserm Beispiel neben den ursprünglich vorhandenen Arten noch 4 neue, die in der sterilen Milch zu stattlichem Wachstum gelangten.

Probe VIIIb liefert uns deutlich den Nachweis, daß die Fluorescenten, deren Herkunft wir in voriger Serie als ungewiß bezeichneten, aus dem Sägemehl stammen müssen. Zuzufolge dieser Erkenntnis sind wir in die Notwendigkeit versetzt, das dort gefällte Urteil insofern abzuschwächen, als durch das Auftreten der Fluorescenten doch ein gewisser, wenn auch bescheidener Einfluß der Streuflora auf die Umsetzungen in der Milch stattfand.

#### b) Versuche mit Sägemehlprobe No. 10.

Die Durchführung dieser Versuchsserien erfolgte in gewohnter Weise nach den in früheren Abschnitten gemachten Angaben, auf welche wir hier verweisen.

Als Ausgangsmaterial diente Sägemehlprobe No. 10 von der bekannten Zusammensetzung:

Sproßpilze . . . .	17 Mill. pro g =	85 %
Kokken . . . . .	2 Mill. „ „ =	10 %
Unbekannte Arten .	1 Mill. „ „ =	5 %
<hr/>		
20 Mill. pro g =		100 %

Die bei den zwei folgenden Serien verwendete Exkrement-Emulsion 14 besaß in frischem Zustande, eine Stunde nach der Herstellung, folgende Mikroflora:

<i>Bacillus megatherium</i> . .	370 000 Keime pro g =	29 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . .	300 000 „ „ „ =	23 %
Aktinomyeten . . . . .	170 000 „ „ „ =	13 %
<i>Bacterium acidilactici</i> .	150 000 „ „ „ =	12 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . .	120 000 „ „ „ =	9 %
<i>B. mycoides</i> . . . . .	110 000 „ „ „ =	8 %
Kokken . . . . .	80 000 „ „ „ =	6 %
<hr/>		
1 300 000 Keime pro g =		100 %

Die bakteriologische Zusammensetzung von 100 g benutzter Streu, bestehend aus 95 g Exkrement-Emulsion 14 und 5 g der Sägemehlprobe No. 10, gestaltete sich wie folgt:

Sproßpilze . . . . .	85 000 000 =	40 %
<i>Bacillus megatherium</i> . .	35 150 000 =	16 %
<i>Bacterium Güntheri</i> . . .	28 500 000 =	12 %
Kokken . . . . .	17 600 000 =	8 %
Aktinomyeten . . . . .	16 150 000 =	7 %
<i>Bacterium acidilactici</i> .	14 250 000 =	6 %
<i>Bacillus mesentericus</i> . .	11 400 000 =	5 %
<i>B. mycoides</i> . . . . .	10 450 000 =	4 %
Unbekannte Arten . . . . .	5 000 000 =	2 %
<hr/>		
Gesamtkeimzahl 223 500 000 =		100 %

In 1 g frisch zubereitetem benutzten Sägemehl fanden sich mithin 2 235 000 Mikroorganismen.

#### Serie 35.

Die Mikroflora benutzten Sägemehles verschiedenen Alters.

Die oben mikrobiologisch charakterisierte benutzte Streu gelangte, in 3 Portionen geteilt, bei 18° C zur Aufbewahrung und wurde nach 12, bzw. 24 und 48 Stunden zur bakteriologischen Prüfung herangezogen:

Untersuchungsergebnis. Datum der Untersuchung: 5. Juli 1911.  
Keimmenge pro g:

Nährboden	Probe III a 12 Std. alt	Probe III b 24 Std. alt	Probe III c 48 Std. alt
Auf den Gelatineplatten . . .	500 000	110 000 000	840 000 000
Auf den Agarplatten . . . . .	500 000	110 000 000	670 000 000
In den Mzkag. hohen Schichten	130 000	50 000 000	800 000 000
Gesamtkeimzahl . . . . .	550 000	110 000 000	910 000 000

## Übersicht der Keimarten.

Keimart	Benutzte Streu %	III a %	III b %	III c %
Kokken . . . . .	8	—	9	13
Bacterium Güntheri . . . . .	12	5	74	79
B. acidi lactici . . . . .	6	22	9	—
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . .	—	13	4	8
Bacillus megatherium . . . . .	16	9	—	—
B. mesentericus . . . . .	5	16	4	—
B. mycoides . . . . .	4	—	—	—
Aktinomyceten . . . . .	7	35	—	—
Sproßpilze . . . . .	40	—	—	—
Unbekannte Arten . . . . .	2	—	—	—
	100	100	100	100

Beim Aufbewahren der benutzten Streu bei 18° C geht, wie aus der Zusammenstellung der Keimzahlen ersichtlich ist, in den ersten 12 Stunden die Keimmenge von 2 235 000 auf 550 000 zurück, steigt dann aber rasch stark an. Hinsichtlich der vorkommenden Arten macht sich bei obigen Proben benutzten Sägemehles die Tendenz geltend, mit zunehmendem Alter der Untersuchungsmaterialien ein Überwuchern des *Bact. Güntheri* auf Kosten der anfänglich noch zahlreich vertretenen Gasproduzenten und Sporenbildner zu begünstigen. Die Sproßpilze der Streu werden völlig unterdrückt.

## Serie 36.

## Einwirkung benutzten Sägemehles auf sterilisierte Milch.

Von dem frisch hergestellten sog. benutzten Sägemehl der Serie 35 wurde je  $\frac{1}{100}$  g in 6 sterilisierte Milchproben zu 100 ccm geimpft, bei 12 bzw. 18° C aufgestellt und nach 12, 24 bzw. 48 Stunden bakteriologisch geprüft. Durch das Impfen mit der Mikroflora von  $\frac{1}{100}$  g benutztem Sägemehl wurden der ursprünglich sterilen Milch pro ccm 223 Keime zugeführt.

## Vorprüfung. Datum der Untersuchung: 5. Juli 1911.

Bezeichnung der Proben . .	IV a	IV b	IV c	IV d	IV e	IV f
Aufbewahrungstemperatur .	12° C	12° C	12° C	18° C	18° C	18° C
Zeit bis zur Untersuchung .	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH	3,2	3,3	3,7	3,2	4	8,5

Der Säuregrad der ungeimpften sterilen Milch betrug bei Beginn der Versuche 3,2 ccm n/10 Na OH.

Keine der Proben zeigte zur Zeit der Untersuchung irgendeine äußerlich wahrnehmbare makroskopische Veränderung der Milch.

Untersuchungsergebnisse:

Keimzahlen pro ccm Milch.

Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamt-Keimzahl
IV a	160	70	30	240
IV b	400	70	—	470
IV c	300	1 200	1 500	2 700
IV d	700	470	370	840
IV e	2 400 000	2 600 000	2 000 000	3 600 000
IV f	600 000 000	550 000 000	500 000 000	600 000 000

Übersicht der Arten.

Arten	Benutztes Sägemehl %	IV a %	IV b %	IV c %	IV d %	IV e %	IV f %
Kokken . . . . .	8	—	—	56	—	—	—
Bacterium Güntheri . . . . .	12	8	—	—	—	14	—
B. acidi lactici . . . . .	6	12	—	—	64	59	—
B. coli . . . . .	—	—	—	—	24	19	100
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	—	—	4	—	—	—	—
Bacillus megatherium . . . . .	16	8	9	—	10	8	—
B. mesentericus . . . . .	5	12	—	—	2	—	—
B. mycoides . . . . .	4	—	2	—	—	—	—
B. putrificus . . . . .	—	12	—	—	—	—	—
Aktinomyeten . . . . .	7	5	11	—	—	—	—
Sproßpilze . . . . .	40	43	74	44	—	—	—
Unbekannte Arten . . . . .	2	—	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100	100

Der Einfluß der Temperatur auf die Mikroflora der geimpften Milch äußerte sich einerseits auf die Weise, daß die Keimzahlen pro ccm Milch in den bei 18° C aufbewahrten Proben bedeutend höhere waren, als bei den andern zu 12° C gestellten Proben, andererseits bewirkte sie eine bestimmte Auslese der Arten. So konnten wir in den kühler aufbewahrten Proben namentlich die üppige Entwicklung der mit dem Sägemehl eingebrachten Sproßpilze, neben denen abwechselnd noch andere Arten auftraten, nachweisen, während die zu höheren Temperaturgraden gestellten Milchproben eine ziemlich einseitige Begünstigung der gasbildenden Milchsäurebakterien, *Bact. acidilactici* und *Bact. coli*, erkennen ließen. Probe IVf war, soweit der Nachweis erbracht werden konnte, eine Reinkultur des wohl mit dem Dünger in die Milch gebrachten *Bact. coli*.

Serie 37.

Einwirkung benutzten Sägemehles auf frische Milch.

Herstellung, Aufbewahrung und Untersuchung der Proben erfolgte wie üblich.

Vorerst prüften wir wieder die zur Verwendung gelangende Milch in frischem Zustande, ebenso die benötigte Kuikot-Harn-Emulsion, auf die Zusammensetzung ihrer Mikroflora.

## Befund in der frischen Milch 9.

Datum der Untersuchung: 17. Juli 1911. Säuregrad = 3,1 ccm n/10 Na OH.

## In quantitativer Hinsicht:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	6 300	Bakterien pro ccm
Auf den Agarplatten . . . . .	10 000	„ „ „
In den Mzkag. hohen Schichten . . . .	600	„ „ „
Gesamtkeimzahl . . . . .	12 200	„ „ „

## In qualitativer Hinsicht:

Kokken . . . . .	7 000	Keime =	57 %
Bacillus mesentericus . . . . .	2 000	„ =	16 %
Bacterium Güntheri . . . . .	2 000	„ =	16 %
Aktinomyeten . . . . .	800	„ =	7 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . .	200	„ =	2 %
Bacillus putrificus . . . . .	200	„ =	2 %
<hr/>			
	12 200	Keime =	100 %

## Befund in der Kuhkot-Harn-Emulsion 15.

## In quantitativer Hinsicht:

Auf den Gelatineplatten . . . . .	2 000 000	Keime pro g
Auf den Agarplatten . . . . .	2 500 000	„ „ „
In den Mzkag. hohen Schichten . . . . .	1 300 000	„ „ „
Gesamtkeimzahl . . . . .	3 400 000	„ „ „

## In qualitativer Hinsicht:

Kokken . . . . .	1 100 000	Keime =	33 %
Bacillus mesentericus . . . . .	800 000	„ =	23 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . .	400 000	„ =	12 %
Bacterium coli . . . . .	400 000	„ =	12 %
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . .	300 000	„ =	8 %
Aktinomyeten . . . . .	200 000	„ =	6 %
Bacillus putrificus . . . . .	200 000	„ =	6 %
<hr/>			
	3 400 000	Keime =	100 %

Die zur Impfung der Milch verwendete benutzte Streu bestand aus einem Gemische von 95 g der Exkrement-Emulsion 15 und 5 g der Sägemehlprobe No. 10. 100 g dieser benutzten Streu enthielten:

Kokken . . . . .	114 500 000	=	28 %
Sproßpilze . . . . .	85 500 000	=	20 %
Bacillus mesentericus . . . . .	76 000 000	=	18 %
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . .	38 000 000	=	9 %
Bacterium coli . . . . .	38 000 000	=	9 %
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . .	28 000 000	=	7 %
Aktinomyeten . . . . .	19 000 000	=	4 %
Bacillus putrificus . . . . .	19 000 000	=	4 %
Unbekannte Arten . . . . .	5 000 000	=	1 %
<hr/>			
	Gesamtkeimzahl 423 000 000	=	100 %

6 sterile Erlenmeyerkölbchen wurden mit je 100 ccm frischer Milch 9 beschickt, einem jeden  $\frac{1}{100}$  g frische, benutzte Streu, bzw. die Mikroflora des genannten Materials zugesetzt und je 3 zu 12° C bzw. 18° C gestellt.

Durch diese Impfung wurden der Milch pro ccm 42 300 Keime zugefügt, so daß die Milch zu Beginn der Versuche pro ccm 54 500 Keime enthielt.

Nach 12, 24, bzw. 48 Stunden wurden die Proben in gewohnter Weise untersucht.

Untersuchungsergebnisse der geimpften Milchproben.  
Vorprüfung.

Bezeichnung der Proben . .	VI a	VI b	VI c	VI d	VI e	VI f
Aufbewahrungstemperatur .	12° C	12° C	12° C	18° C	18° C	18° C
Zeit bis zur Untersuchung .	12 Std.	24 Std.	48 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
Säuregrad in ccm n/10 NaOH	3,2	3,5	3,7	3,2	4,1	6,9



Probe VI f hatte bei der Untersuchung eine 2 mm dicke Serumzone unter der Rahmdecke, sonst war die Flüssigkeit unverändert.

Alle übrigen Proben zeigten keine makroskopisch wahrnehmbaren Veränderungen.

## Zahl der Keime pro cem.

Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamt- Keimzahl
VI a	6 100	8 000	2 300	8 300
VI b	160 000	190 000	18 000	190 000
VI c	24 000 000	44 000 000	17 000 000	46 000 000
VI d	200 000	170 000	150 000	200 000
VI e	32 000 000	40 000 000	11 000 000	49 000 000
VI f	550 000 000	680 000 000	50 000 000	1 060 000 000

Mit dem Älterwerden der Milchproben konnte eine langsame Säurezunahme und gleichzeitig eine bedeutende Keimvermehrung, die in innigem Zusammenhange mit der Aufbewahrungstemperatur stand, beobachtet werden. Dabei konstatierten wir bei 12°C zunächst ein bedeutendes Zurückgehen der Keimmenge und erst dann das Einsetzen einer kräftigen Vermehrung, während bei 18°C die Vermehrungsvorgänge viel rascher einsetzten.

## Keimarten:

Keimart	Benutzte Streu %	Frische Milch %	VI a %	VI b %	VI c %	VI d %	VI e %	VI f %
Kokken . . . . .	28	57	90	89	74	85	72	—
Bacterium fluorescens . . .	—	—	—	—	21	—	—	—
B. Güntheri . . . . .	—	16	—	11	—	—	18	—
B. coli . . . . .	9	—	—	—	—	—	4	64
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	9	2	—	—	—	15	—	—
Langstäbchen (nicht weiter verfolgt) . . . . .	7	—	6	—	—	—	—	—
Bacillus mesentericus . . .	18	16	—	—	5	—	2	36
B. putrificus . . . . .	4	2	4	—	—	—	—	—
Aktinomyceten . . . . .	4	7	—	—	—	—	—	—
Sproßpilze . . . . .	20	—	—	—	—	—	4	—
Unbekannte Arten . . . . .	1	—	—	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100	100	100

Die reichlich Kokken enthaltende frische Milch erhielt durch die Infektion mit Kuhkot-Harn-Emulsion und Sägemehl einen weiteren Zuschuß an solchen Spaltpilzen, die dann auch in der Folge für die meisten Proben den Hauptbestandteil der Mikroflora ausmachten.

Dem psychophilen Charakter des *Bact. fluorescens* ist wohl sein plötzliches Auftreten in Probe VI c zuzuschreiben.

Sehr ungünstig gestaltete sich der Gärverlauf in Milchprobe VI f, wo ca.  $\frac{2}{3}$  der Keime dem *Bact. coli* und der Rest dem *Bac. mesentericus* zugehörten. Die Verwertung derartiger Milch in Molkereibetrieben

dürfte manche Unannehmlichkeiten nach sich ziehen. Die Schuld an dieser unvorteilhaften Zusammensetzung der Mikrobenflora jener Probe ist wohl mit ziemlicher Sicherheit der Kuhkot-Infektion beizulegen.

## Serie 38.

## Einwirkung frischen Sägemehles auf frische Milch.

Herstellung der Proben wie üblich. Die zum Impfen der einzelnen Proben verwendete Menge Sägemehl betrug  $\frac{1}{100}$  g auf 100 ccm Nährflüssigkeit. In Serie 38 fand die frische Milch 9 (wie in Serie 37) Verwendung.

Da die zur Impfung der frischen Milch 9 verwendete Sägemehlprobe 10 pro g 20 Mill. Mikroorganismen enthielt, die zu 85 Proz. aus Sproßpilzen, zu 10 Proz. aus Kokken und zu 5 Proz. aus unbekannten Arten bestand, so wurden der Milch durch den Impfprozeß 2000 Keime pro ccm zugefügt. Da die frische Milch schon 12 200 Keime enthielt, so stieg ihr Gesamtkeimgehalt zu Beginn der Versuche auf 14 200 pro ccm an.

Vorprüfung. Datum der Untersuchung: 17. Juli 1911.

Probe	Aufbewahrungstemp.	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VII a	12° C	24 Std.	3,9
VII b	12° C	6 Tage	18
VII c	18° C	24 Std.	4,1
VII d	18° C	4 Tage	13

Die Proben VII a und VII c zeigten keinerlei makroskopische Veränderung.

Bei Probe VII b war unter der intakten Rahmdecke eine 4 mm breite, helle Serumzone zu sehen, die übrige Masse war typisch gallertig geronnen und das Kasein als homogener, zusammenhängender Klumpen ausgeschieden.

Das gleiche Bild der gallertigen Gerinnung zeigte auch Probe VII d.

## Keimmenge pro ccm Milch.

Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamt-Keimzahl
VII a	1 000 000	880 000	160 000	1 020 000
VII b	2 800 000 000	2 500 000 000	3 700 000 000	4 000 000 000
VII c	31 000 000	30 000 000	25 000 000	39 000 000
VII d	2 200 000 000	2 400 000 000	2 000 000 000	2 400 000 000

## Übersicht der Keimarten.

Keimart	Sägemehl No. 10 %	Frische Milch %	VII a %	VII b %	VII c %	VII d %
Kokken . . . . .	10	57	98	8	77	—
Bacterium fluorescens . . . . .	—	—	—	—	5	8
Kurzstäbchen (nicht weiter verfolgt)	—	2	2	—	—	—
Bacterium Güntheri . . . . .	—	16	—	92	—	92
B. acidi lactici . . . . .	—	—	—	—	18	—
Bacillus mesentericus . . . . .	—	16	—	—	—	—
B. putrificus . . . . .	—	2	—	—	—	—
Aktinomyceten . . . . .	—	7	—	—	—	—
Sproßpilze . . . . .	85	—	—	—	—	—
Unbekannte Arten . . . . .	5	—	—	—	—	—
	100	100	100	100	100	100

Die Proben dieser Serie zeigten einen Gärverlauf, wie wir ihn bei normaler, ungeimpfter Milch in der Molkereipraxis sehr häufig antreffen. In den ersten 24 Stunden ist eine stattliche Vermehrung der Kokken festzustellen, die dann im weiteren Verlaufe der Gärung dem *Bact. Güntheri* die Führung überlassen. Letzteres bewirkte auch die typische gallertige Gerinnung der Milch in den Proben VIIb und VIId.

Einen auffallenden Einfluß vermochten die mit dem Sägemehl in die frische Milch gebrachten Mikroorganismen auf den Gärverlauf in der Milch nicht auszuüben.

Daß sowohl Keime des hier vorgefundenen *Bact. fluorescens*, wie des *Bact. Güntheri*, in sehr bescheidener Quantität in dem Sägemehl vorhanden sein mußten, ist aus den Versuchen der folgenden Serie ersichtlich.

In Serie 38 setzte die Vermehrung der in der Milch sich findenden Bakterien sowohl bei 12°, als bei 18° C sehr rasch ein.

### Serie 39.

#### Einwirkung frischen Sägemehles auf sterilisierte Milch.

Herstellung der Proben wie üblich.

Impfmenge:  $\frac{1}{100}$  g Sägemehl auf 100 ccm Milch, bzw. es wurde die Mikroflora von  $\frac{1}{100}$  g der Sägemehlprobe No. 10 in 100 ccm sterile Milch verbracht. Dadurch gelangten in den ccm Milch 2000 Keime.

Vorprüfung. Datum der Untersuchung: 19. Juli 1911.

Bezeichnung der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Säuregrad in ccm n/10 NaOH
VIII a	12° C	24 Std.	3,5
VIII b	12° C	12 Tage	10,1
VIII c	18° C	24 Std.	3,6
VIII d	18° C	4 Tage	19,9

Der Säuregrad der ungeimpften sterilen Milch betrug 3,4 ccm n/10 NaOH.

Makroskopisches Aussehen der Milchproben:

Probe VIIla und VIllc waren unverändert.

Probe VIIlb: Die Milch erwies sich noch als flüssig, unter dem Rahme war aber eine  $\frac{1}{2}$  cm breite grüngelbliche Serumzone sichtbar.

Probe VIll d: Unter der intakten Rahmdecke befand sich eine 3 mm breite Serumzone; das Kasein war feinflockig-gallertig ausgeschieden.

#### Anzahl der Keime pro ccm Milch.

Probe	Auf den Gelatineplatten	Auf den Agarplatten	In den Milchzuckeragar hohen Schichten	Gesamt-Keimzahl
VIII a	230	180	120	300
VIII b	200 000 000	230 000 000	220 000 000	300 000 000
VIII c	370 000	760 000	210 000	780 000
VIII d	100 000 000	100 000 000	40 000 000	119 000 000

Die Vermehrung der in die Milch verbrachten Mikroorganismen des Sägemehles setzt bei 12° C nicht sofort ein, sondern es ist in den ersten 24 Stunden ein Zurückgehen der Gesamtkeimzahl auf ca.  $\frac{1}{7}$  zu konstatieren.

9\*

## Übersicht der Keimarten.

Keimart	Sägemehl No. 10 %	VIII a %	VIII b %	VIII c %	VIII d %
Kokken . . . . .	10	—	—	—	—
<i>Bacterium fluorescens</i> . . . . .	—	77	77	47	84
<i>B. Güntheri</i> . . . . .	—	—	23	53	6
<i>Bacillus putrificus</i> . . . . .	—	23	—	—	10
Sproßpilze . . . . .	85	—	—	—	—
Unbekannte Arten . . . . .	5	—	—	—	—
	100	100	100	100	100

Weder bei der Impfung des Sägemehls in frische, noch in sterile Milch haben wir ein Wachstum der Sproßpilze beobachten können, auch die Kokken vermissen wir diesmal. Um so besser haben sich *Fluorescenten*, *Bact. Güntheri* und selbst *Bact. putrificus* entwickeln können, so daß sie einen leicht nachweisbaren Hauptbestandteil der Mikroflora der Milch auszumachen vermochten.

Zusammenfassung der wichtigsten Untersuchungsergebnisse des Abschnittes:

c) Einwirkung von frischem und benutztem Sägemehl auf frische und sterilisierte Milch.

Unter Hinweis auf die bei den einzelnen Serien schon gemachten Bemerkungen fassen wir die hauptsächlichsten Untersuchungsergebnisse dieses Abschnittes folgendermaßen zusammen:

1. Frisches Sägemehl, in der von uns gewählten Menge von  $\frac{1}{10}$  bzw.  $\frac{1}{100}$  g auf 100 cem Nährflüssigkeit, in frische Milch verbracht, vermochte in keiner Weise die mikrobiologischen Umsetzungen in der Milch zu beeinflussen, da die dem Sägemehl entstammenden Mikroben nur spärlich gewachsen waren. Vorwiegend kamen die schon zu Anfang in der Milch anwesenden Kokken, *Bact. Güntheri* und *Bact. acidilactici* zur Entwicklung. Bei einer Aufbewahrungstemperatur von 12° C trat nach 10-tägiger Versuchsdauer bei der einen Probe das *Bact. fluorescens* in ansehnlicher Menge auf.

2. In einer mit frischem Sägemehl geimpften, sterilisierten Milch entwickelten sich, namentlich bei einer Aufbewahrungstemperatur der Proben von 12° C, die *Fluorescenten*. Wurden die Proben bei 18° C aufgestellt, so waren in einem Falle *Bact. Güntheri*, im andern *Bact. acidilactici* und *Bact. coli* die vorherrschenden Keimarten. Dabei ist bemerkenswert, daß weder *Bact. fluorescens*, noch *Bact. Güntheri* und *Bact. acidilactici* in einer der verwendeten Sägemehlproben in nachweisbarer Menge zu konstatieren waren.

3. Die Mikroflora des benutzten Sägemehles, in der von uns verwendeten Menge in frische Milch verbracht, vermochte keinen Einfluß auf die mikrobiologischen Umsetzungen der Nährflüssigkeit auszuüben, da sich in den Proben zur Hauptsache die schon in der ungeimpften, frischen Milch anwesenden Kokken, *Bact. Güntheri* und die gasbildenden Milchsäurebakterien vom Typus des *Bact. coli* und des *Bact. acidilactici* vermehrten.

4. Beim Verbringen der Mikroflora kleiner Mengen von benutzter Sägemehlstreu in sterilisierte Milch entwickelten sich in der 1. Versuchsserie, bei einer Aufbewahrungstemperatur der Proben von 12° C, hauptsächlich *Bact. Güntheri* und *Bact. acidilactici*; diese Arten kamen auch bei 18° C zum Vorschein und neben ihnen, nach 12stündiger Aufbewahrung der Milch, zahlreiche Sporenbildner. In einem 2. Versuche waren bei der Temperatur von 12° C Sproßpilze, bei 18° C *Bact. coli* und *Bact. acidilactici* die vorherrschenden Keimarten.

5. Beim Aufbewahren von benutztem Sägemehl bei 18° C während 12, 24, bzw. 48 Stunden war bei der einen Probe erst ein Zurückgehen der Keimzahl in den ersten 24 Stunden auf ca.  $\frac{1}{7}$  festzustellen, dann aber erfolgte eine rapide Zunahme der Keimmenge; bei der anderen Probe dagegen erfolgte von Anfang an eine erst langsame, dann aber rasche Keimvermehrung.

In der einen benutzten Sägemehlprobe wurde beim Aufbewahren das *Bact. Güntheri* sehr bald zur dominierenden Art, bei der andern Probe spielten *Bact. acidilactici*, Kugelbakterien, *Bact. aërogenes* und *Bact. Güntheri* eine wichtige Rolle, während andere Spaltpilzspezies mehr in den Hintergrund traten.

## 5. Untersuchungen an Mühlenstaub.

### A. Bisherige Forschungsergebnisse.

Ein öfters angewendetes Einstreumaterial ist der „Mühlenstaub“, der als Nebenprodukt bei der Müllerei gewonnen wird. Er setzt sich vorwiegend aus dem von den Getreidereinigungsmaschinen abgehenden Schmutze zusammen und weist in seinen Bestandteilen ganze und zertrümmerte Samenschalen, Pflanzenhaare, Erdpartikelchen, manchmal Stärkekörner, sowie allerlei organische und anorganische Bestandteile auf. Verdorbenes oder sonst unbrauchbar gewordenes Backmehl, das auch für die Viehfütterung keine Verwendung finden kann, wird ebenfalls als Mühlenstaub in den Handel gebracht.

Die Forschungen über den Bakteriengehalt des Mühlenstaubes stehen in engstem Zusammenhange mit solchen über den Keimgehalt des Getreides und des Mehles.

Speziell der Frage der Gärung des Mehlteiges schenkte man schon früh allgemeine Aufmerksamkeit. Eine Zusammenstellung der diesbezüglichen Untersuchungen, sowohl in chemischer wie bakteriologischer Richtung, erschien im Jahre 1906 von Maurizio (61) unter dem Titel: Die Gärung des Mehlteiges. Dasselbst finden wir eine eingehende Besprechung der Arbeiten von Bibra (13), Dünninger (22), Fränkel (31), Laurent (56), Holliger (44) und anderer Autoren, deren Resultate wir bei der Erläuterung unserer Untersuchungen noch näher in Berücksichtigung ziehen werden.

Veranlassung zu ausgedehnten Untersuchungen auf dem Gebiete der Mehlbakteriologie gab ein in Bäckereien während der Sommerszeit öfters auftretender Brotfehler, das sog. Schleimig- oder Fadenziehendwerden des Brotes. König, Spieckermann, Tillmanns und Beulshausen (52) widmeten sich dieser Frage speziell nach der chemischen Seite hin, indessen Laurent (56), Kretschmer, Niemilowicz, Vogel, Fuhrmann (52), Watkins (81) und Thomann (80) mehr die mikrobiologischen Verhältnisse dieser Brotkrankheit erforschten.

Mit der Auffindung des *Bacillus mesentericus* (Flügge) L. et N. und seiner Verwandten als den in Frage kommenden Krankheitserreger gelangten diese Untersuchungen, denen wir in der Hauptsache die nähere Kenntnis der das Mehl bewohnenden Bakterienarten zu verdanken haben, zu einem gewissen Abschlusse.

Spezielle bakteriologische Untersuchungen bezüglich Mühlenstaub, sowie über dessen Eignung als Streumittel für Milchvieh machte Peter (68), der dabei zum Schlusse kam, daß Mühlenstaub ein stark bakterienhaltiges Material sei und eine damit geimpfte Milch sehr gerne blähende Eigenschaften entfalte, weshalb Mühlenstaub als Streumaterial für Milchvieh keine Verwendung finden solle.

#### B. Untersuchung einzelner Mühlenstaubproben.

In den Sommersemestern 1910 und 1911 erhielten wir durch die freundliche Vermittlung zweier ostschweizerischer Mühlengenossenschaften 24 Proben von Mühlenstaub verschiedener Herkunft, die wir kurze Zeit nach der Ankunft im Laboratorium in bekannter Weise, wie die Stroh-, Schwarzstreu- und Sägemehlproben, bakteriologisch untersucht haben.

Der bakteriologischen Prüfung haben wir jeweils eine makroskopische und mikroskopische Untersuchung des Materials vorangehen lassen, deren Resultate im folgenden zusammengestellt seien:

Nummer der Probe	Bemerkungen über Bezeichnung der Probe, makroskopisches und mikroskopisches Aussehen, Farbe, Geruch usw.
1	Sog. „Staub“ <sup>1)</sup> bestehend aus Frucht- und Samenschalenresten, nebst vielen Pflanzenhaaren und Aleuronkörnern, wenigen Stärkekörnern und zahlreichen Staubpartikelchen. Die Farbe war schmutzig graubraun und der Geruch muffig.
2	Sog. „Staub“. Diese Probe enthielt neben einer größeren Menge fein zertrümmerter Frucht- und Samenschalen nur wenig Pflanzenhaare und Staubpartikel. Die Farbe war hellgelb und der Geruch muffig.
3	Sog. „Ausmahleten“ <sup>1)</sup> . Ein Gemisch von größeren und kleineren Frucht- und Samenschalenfragmenten mit Pflanzenhaaren; es enthielt nur wenig Stärkekörner und Staubpartikel. Die Probe sah hellbraun aus und ließ nichts Abnormales im Geruche erkennen.
4	Sog. „Ausmahleten“. Die Hauptmasse der Probe bestand aus ganzen Frucht- und Samenschalen, nebst Trümmern von solchen; ferner waren im mikroskopischen Bilde viele Pflanzenhaare und größere Mengen Staubes zu sehen. Die Farbe war hellgelb und der Geruch der Probe schwach muffig.
5	Diese Probe enthielt nur Stärkekörner, da es gewöhnliches weißes Backmehl war, das einen spezifisch fauligen Geruch hatte, und aus diesem Grunde nicht verkauft werden konnte, sondern als „Mühlenstaub“ Verwendung fand.
6	Sog. „Staub“. Die Frucht- und Samenschalentrümmer sind vorherrschend, daneben wenig Stärkekörner, aber zahlreiche Pflanzenhaare. Dieser gelbliche Staub hatte nichts Besonderes hinsichtlich Geruch aufzuweisen.

<sup>1)</sup> „Staub“ und „Ausmahleten“ sind die müllereitechnischen Ausdrücke, unter welchen uns die Proben eingesandt wurden.

Nummer der Probe	Bemerkungen über Bezeichnung der Probe, makroskopisches und mikroskopisches Aussehen, Farbe, Geruch usw.
7	Sog. „Ausmahleten“. Außer einer Menge von Frucht- und Samenschalen-trümmern in der einheitlichen Größe von ca. 1 mm <sup>2</sup> und ziemlich vielen Stärkekörnern, fanden sich in dieser Probe, die normalen Geruch aufwies, nur wenig Haare und Staub.
	Als gemeinsame Merkmale der folgenden Proben No. 8—24 möchten wir die hellgelbe-graugelbe Farbe und den normalen Geruch des Mühlenstaubes anführen.
8	Sog. „Ausmahleten“. Die Hauptmasse dieses Mühlenstaubes bestand aus Frucht- und Samenschalenpartikeln, vermischt mit wenigen Stärkekörnern.
9	Sog. „Staub“. Im mikroskopischen Bilde dieser Probe sahen wir fein zer-kleinerte Frucht- und Samenschalen und nur wenige Stärkekörner.
10	Sog. „Ausmahleten“. Neben kleinen ungefähr in gleicher Größe (1 mm <sup>2</sup> ) vorkommenden Frucht- und Samenschalenfragmenten, waren in dieser Probe eine beträchtliche Menge Stärkekörner, jedoch keine Pflanzenhaare zu sehen.
11	Sog. „Staub“, bestehend aus einem Gemisch von Frucht- und Samenschalen-resten, Pflanzenhaaren und Staub. Stärkekörner wurden nicht vorgefunden.
12	Sog. „Ausmahleten“. Die Hauptmasse der Probe bildeten Frucht- und Samenschalenstückchen, denen eine kleine Zahl von Stärkekörnern und Pflan-zenhaaren beigemischt war.
13	Sog. „Staub“. Vorherrschende Bestandteile waren Pflanzenhaare, daneben relativ wenige Frucht- und Samenschalentrümmern.
14	Sog. „Ausmahleten“, die sich aus Frucht- und Samenschalenresten mit teilweise darin sitzenden Stärkekörnern, nebst losgelöster Stärke zusamen-setzte; weder Haare, noch sonstige Verunreinigungen waren vorhanden.
15	Sog. „Staub“. Die Probe bestand aus einer Mischung gröberer und feinerer Frucht- und Samenschalenfragmenten mit Pflanzenhaaren.
16	Sog. „Ausmahleten“, größtenteils bestehend aus Frucht- und Samenschalen-trümmern, nebst wenigen Stärkekörnern.
17	Sog. „Staub“. Den wichtigsten Bestandteil der Probe bildeten Pflanzen-haare; außer diesen waren größere und kleinere Frucht- und Samenschalen-partikelchen und sehr wenig Stärkekörner vorhanden.
18	Sog. „Ausmahleten“, die wie Probe 16 zusammengesetzt war.
19	Sog. „Staub“. Als Hauptbestandteil der Probe erwiesen sich Pflanzenhaare, denen wenige Frucht- und Samenschalenreste beigegeben waren; die Stärkekörner fehlten.
20	Sog. „Ausmahleten“. Frucht- und Samenschalenstücke bildeten die Haupt-masse dieser Probe. Die Zahl der vorgefundenen Stärkekörner war sehr klein.
21	Sog. „Ausmahleten“. Neben vielen Stärkekörnern waren in dieser Probe noch größere Mengen Frucht- und Samenschalentrümmern in der Größe von 4—5 mm <sup>2</sup> zu sehen.
22	Sog. „Ausmahleten“. Das mikroskopische Bild war dem der Probe 8 analog.

Nummer der Probe	Bemerkungen über Bezeichnung der Probe, makroskopisches und mikroskopisches Aussehen, Farbe, Geruch usw.
23	Sog. „Staub“. Diese Probe enthielt vorwiegend Frucht- und Samenschalenteilchen, sowie Pflanzenhaare nebst wenigen Stärkekörnern.
24	Sog. „Ausmahleten“, die sich aus Frucht- und Samenschalenfragmenten, vielen Stärkekörnern und einigen Aleuronkörnern zusammensetzte.

**Zusammenstellung der Keimzahlen sämtlicher  
Mühlenstaubproben.**

Nummer der Probe	Auf den Gelatineplatten Keime pro g	Auf den Agarplatten Keime pro g	In den Milchzuckeragar hohen Schichten Keime pro g	Gesamt- Keimzahl pro g
1	23 400 000	25 000 000	—	25 000 000
2	31 500 000	61 200 000	—	61 900 000
3	28 000 000	16 000 000	2 500 000	28 100 000
4	70 000 000	300 000 000	15 000 000	305 000 000
5	10 000	11 000	30 000	51 000
6	19 000 000	20 000 000	21 000 000	37 000 000
7	300 000	240 000	2 600 000	2 940 000
8	5 400 000	3 100 000	1 900 000	7 800 000
9	31 000 000	23 000 000	16 000 000	48 000 000
10	42 000 000	34 000 000	32 000 000	78 000 000
11	60 000 000	65 000 000	170 000 000	238 000 000
12	20 000 000	23 000 000	12 000 000	42 000 000
13	17 000 000	48 000 000	4 000 000	51 700 000
14	13 100 000	31 000 000	42 000 000	73 000 000
15	27 000 000	32 000 000	10 000 000	43 000 000
16	2 500 000	3 100 000	2 000 000	5 100 000
17	15 000 000	13 000 000	23 000 000	38 000 000
18	5 500 000	9 000 000	5 600 000	11 600 000
19	73 000 000	250 000 000	14 000 000	265 000 000
20	4 300 000	7 600 000	1 200 000	9 400 000
21	650 000	630 000	250 000	1 280 000
22	7 000 000	6 500 000	7 000 000	12 000 000
23	38 000 000	60 000 000	50 000 000	118 000 000
24	2 200 000	2 000 000	3 200 000	5 100 000

**Besprechung der Resultate der Keimzahl-Tabellen.**

Wohl bei keinem anderen Einstreumittel ist die Zahl der in einem g enthaltenen Mikroorganismen eine so wechselnde, wie bei Mühlenstaub. Bei unsern Untersuchungen fanden wir 51 000 Keime im Minimum bis zu 305 000 000 Keime im Maximum in der angegebenen Menge Mühlenstaub; das Mittel betrug 62,7 Millionen Mikroorganismen pro g.

Die von Peter (68) auf Gelatineplatten gefundenen Keimzahlen von Mühlenstaub schwankten zwischen 15 000 bis 45,36 Millionen pro g.

Im einleitenden Teile über die Untersuchungen an Strohproben haben wir erwähnt, wie die auf Getreide sitzende Bakterienmenge innerhalb weiter Grenzen schwanken kann. Wenn nun schon der Keimgehalt des Getreides im allgemeinen ein hoher ist, so wird es uns nicht wundern, wenn die bei der Verarbeitung des Getreides losgelösten und als Mühlenstaub abgeschiedenen Frucht- und Samenschalen ebenfalls Träger zahlreicher Mikroorganismen



Zusammenstellung der Keimarten sämtlicher Mühlenstaubproben.

No. der Mühlenstaubprobe	Kokken	Sarcinen	Bacterium herbicola	Gelber Säurebildner	Kurzstäbchen in gelben Kolonien wachsend	Kurzstäbchen in orange gefärbten Kolonien wachsend	Bacterium fluorescens	Bact. putidum	Bact. Güntheri	Bact. acid. lactici	Bact. coli	Bacillus putrificus	Aktinomycoeten	Sproßpilze	Mycelpilze	Unbekannte Arten	Total
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1	—	—	92	—	—	—	2	—	—	8	—	—	—	—	—	—	100
2	—	—	98	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
3	11	—	89	—	—	—	2	—	—	10	16	—	—	—	—	—	100
4	7	—	65	—	—	—	—	—	—	6	—	—	—	—	—	—	100
5	—	3	—	—	6	—	2	—	21	—	—	59	2	—	4	—	100
6	5	—	49	—	—	—	—	—	—	3	40	—	—	—	—	—	100
7	56	—	10	28	—	—	—	—	—	—	—	34	—	—	—	—	100
8	—	—	7	—	—	2	41	—	24	—	—	—	—	—	—	—	100
9	33	—	41	—	—	—	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
10	41	—	23	—	—	—	29	—	—	—	7	—	—	—	—	—	100
11	63	—	19	—	—	—	10	—	—	—	8	—	—	—	—	—	100
12	24	—	12	—	—	—	45	—	—	14	—	5	—	—	—	—	100
13	7	—	64	—	—	—	29	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
14	55	—	29	—	—	—	13	—	—	—	—	3	—	—	—	—	100
15	19	—	58	—	—	—	23	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
16	—	—	40	—	—	—	20	—	40	—	—	—	—	—	—	—	100
17	—	—	34	—	—	—	5	—	61	—	—	—	—	—	—	—	100
18	—	—	48	—	—	—	52	—	5	—	—	—	—	4	—	—	100
19	—	—	23	—	—	—	68	—	—	16	—	—	—	—	—	—	100
20	—	—	26	—	4	—	33	—	—	—	21	—	—	—	—	—	100
21	—	3	35	16	—	—	3	23	20	28	—	—	—	—	—	—	100
22	—	—	21	9	—	—	18	39	33	4	—	—	—	—	—	—	100
23	—	—	45	—	—	—	3	—	55	—	—	—	—	—	—	—	100
24	—	—	29	—	—	—	10	—	—	—	—	—	—	—	—	6	100

sind. Zwischen dem Bakteriengehalte des Getreides und demjenigen des Mühlenstaubes besteht eine gewisse Relation, die, wie wir sehen werden, auch in der Art der Keime zum Ausdruck kommt.

Besprechung der Resultate der Keimarten-Tabelle auf Seite 137.

In Ergänzung des in der Einleitung dieses Kapitels Gesagten mögen an dieser Stelle die Resultate früherer Forscher über die Arten der in Mehl und Mühlenstaub vorhandenen Keime Platz finden.

Die Untersuchungen von Dombrowsky (18), Levy und Armand (59) über Mehl und Sauerteig erwiesen das oft starke Auftreten *Bact. coli* artiger Organismen in besagten Substanzen. Burri und Holliger (16) fanden im Sauerteig neben Hefen, die in der Mehrzahl vertreten waren, *Bact. coli*, den Gelben Gasbildner Holliger und den Gelben Säurebildner Levy. Über die bakteriologische Prüfung von Weizenmehlen berichtet Papasotiriu (66), der dabei zum Schlusse kam, daß das von Wolffin und Fränkel im Mehl gefundene *Bact. levans* mit *Bact. coli* identisch sei. Stockmann (79) isolierte aus einem Aufguß von Mehl und Wasser, der mit einer gelblichen Haut überzogen war, ein an *Bac. mycoides* erinnerndes Stäbchen, das aber kein Gelatineverflüssigungsvermögen besaß. Prescott, Smith, Nixter und Gunn (70) haben bei Untersuchungen von Spelzarten das *Bact. coli* und *Streptococcus pyogenes* angetroffen. Das *Bact. prodigiosum* traf Haws (39) dreimal in Milch und zweimal in Mehl. Peter (68) erwähnt als die praktisch wichtigste Bakterienart des Mühlenstaubes den Gasbildner *Bact. aërogenes*, weiterhin Schimmelpilze und gelatineverflüssigende Bazillen. Arnoldow (2) studierte speziell qualitative und quantitative Veränderung in der chemischen Zusammensetzung des Roggenmehls, herbeigeführt durch das Wachstum von Schimmelpilzen.

In den 24 von uns untersuchten Mühlenstaubproben trafen wir:

1. <i>Bacterium herbicola aureum</i> Burri et Dügge	23-mal
2. <i>B. fluorescens</i> (Flügge) L. et N. . . . .	20 „
3. Kokken . . . . .	11 „
4. <i>Bacterium Güntheri</i> L. et N. . . . .	} je 8 „
<i>B. acidilactici</i> Hueppe. . . . .	
5. <i>B. coli</i> ((Escher.) L. et N. . . . .	5 „
6. <i>Bacillus putrificus</i> Bienst. . . . .	4 „
7. Gelber Säurebildner Levy . . . . .	3 „
8. Sarcinen . . . . .	} je 2 „
Kurzstäbchen in gelben Kolonien wachsend (nicht weiter verfolgt) . . . . .	
<i>Bacterium putidum</i> (Flügge) L. et N. . . . .	} je 1 „
9. Kurzstäbchen in orangeroten Kolonien wachsend (nicht weiter verfolgt) . . . . .	
Aktinomyceten . . . . .	
Sproßpilze . . . . .	
Mycelpilze . . . . .	
Unbekannte Arten . . . . .	

Mit einer einzigen Ausnahme begegnete uns in allen mit Mühlenstaub angelegten Kulturen das *Bacterium herbicola aureum*, das wir jeweils eingehender auf seine Artzugehörigkeit prüften, wobei namentlich die in älteren, auf Agar gezüchteten Kolonien auftretende sog. Zoogloënbildung ein wichtiges diagnostisches Merkmal bildete. Die zahlreichen Angaben in der Literatur über das Vorkommen eines Gelben Gasbildners und

eines Gelben Säurebildners, wie sie Holliger und Levy beschrieben haben, im Mehl, legte uns die Vermutung nahe, daß in manchen Fällen diese Organismen mit dem *Bact. herbicola aureum* identisch gewesen seien. In dieser Vermutung werden wir noch durch den Umstand bestärkt, daß es keineswegs leicht ist, diese sich nahestehenden, gelben Farbstoff produzierenden Kurzstäbchen auseinanderzuhalten.

Bei unsern Untersuchungen begegneten wir dreimal Kurzstäbchen, deren Beschreibung vollkommen zur Charakterisierung des Gelben Säurebildners Levy paßte, während in 2 andern Fällen Kurzstäbchen vorlagen, die zwar in gelben Kolonien wuchsen, dabei aber, zufolge mangelnder Gas- und Säurebildung, weder mit dem Gelben Gasbildner Holliger, noch mit dem Gelben Säurebildner Levy identifiziert werden konnten. Da Zooglöenbildung nicht wahrnehmbar war, so durften sie auch nicht mit *Bact. herbicola aureum* zusammengezählt werden. Unsere zahlreichen Beobachtungen über Form und Wachstum des *Bact. herbicola aureum*, wie sie gerade bei den Mühlenstaubuntersuchungen gemacht werden konnten, erweckten in uns den Eindruck, daß wir jedenfalls zahlreiche *Herbicola*-Varietäten vor uns hatten, von denen manche als Übergänge sowohl zum Gelben Gasbildner, als zum Gelben Säurebildner anzusprechen waren. In manchen *Herbicola*-Kolonien war die dem *Bact. herbicola* als typisch zugesprochene Zooglöenbildung beinahe an die Grenze des Erkennens gerückt. Das Studium der verwandtschaftlichen Beziehungen genannter Bakterienarten wäre wohl interessant, konnte aber von uns im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr durchgeführt werden, so daß wir es der Zukunft überlassen müssen, besagte Verhältnisse noch mehr abzuklären.

Als häufigen Begleiter des *Bact. herbicola aureum* haben wir auf Pflanzenteilen schon bei andern Untersuchungsmaterialien das *Bact. fluorescens* angetroffen. Immerhin überraschte uns die große Menge der im Mühlenstaube gefundenen Vertreter dieser Bakterienart, da die Fluorescenten als relativ stark feuchtigkeitsliebende Organismen bekannt sind und wir sie deshalb in dem durchwegs gut trockenen Mühlenstaube nicht so zahlreich vermuteten. Die Tatsache, daß sowohl *Bact. herbicola*, wie *Bact. fluorescens* durch Schleimbildung an der Oberfläche ihres Zelleibes, wodurch sie eine Art Schutzschicht erhalten, dem Austrocknen längere Zeit wirksam entgegentreten können, bestätigen unsere Befunde neuerdings deutlich.

Alle Kokken waren Mikrokokken; Streptokokken trafen wir nicht. Ein Drittel aller Proben beherbergte *Bacterium Güntheri* und *Bact. acidilactici*, ersteres zweimal mehr als die Hälfte aller Keime ausmachend, letzteres in der Höchstmenge mit 28 Proz. in einer Probe auftretend. Das bei Mehluntersuchungen früherer Autoren oft genannte *Bacterium coli* konnten wir in 5 Fällen eruieren, besonders zahlreich in Probe 6; auch die mit der höchsten Keimzahl bedachte Probe 4 hatte im rund 122 Millionen Coli-Keime, ein Befund der, in Rücksicht auf die Gefährlichkeit dieser Bakterienart für die Milchwirtschaft, Beachtung verdient. Jedenfalls ist solcher Mühlenstaub als Streumaterial gar nicht empfehlenswert.

Die bakteriologische Prüfung des sog. verdorbenen Backmehls, wie es uns in Probe 5 eingeliefert wurde, ergab als Urheber des dem Mehle anhaftenden fauligen Geruches eine Menge Keime des *Bacillus putrificus* Bienstock. Voraussichtlich war dieses Mehl beim Lagern feucht

geworden, wodurch gewisse Zersetzungserscheinungen unter Mithilfe von Bakterien begünstigt wurden, sowie schädliche und unschädliche Mikroben heranwuchsen und auch Mycelpilze gedeihen konnten. Größere Mengen des *Bacillus putrificus* kamen einzig noch in Mühlenstaubprobe 7 vor, die jedoch äußerlich weder merkbare Abweichungen vom normalen Aussehen zeigte, noch Duftstoffe abgab, von denen man auf die Anwesenheit von Keimen unerwünschter Art hätte schließen können.

Von vereinzelt aufgetretenen Mikroorganismen im Mühlenstaube wären noch zu nennen: Das von uns im Kapitel Stroh beschriebene, orangerote Kolonien bildende Kurzstäbchen, Aktinomyceten, Sproßpilze und Mycelpilze.

### C. Einwirkung frischen und benutzten Mühlenstaubes auf frische und sterilisierte Milch.

#### a) Versuche mit Mühlenstaubprobe No. 1.

Mit Mühlenstaubprobe No. 1 und No. 2 haben wir in gleicher Weise, wie dies bei andern Streumaterialien in den vorhergehenden Kapiteln dargestellt wurde, Versuche durchgeführt, welche die Entwicklungsfähigkeit von Streubakterien in frischer und sterilisierter Milch und die dabei zu beachtenden Zersetzungen und Umsetzungen in der Nährflüssigkeit nachweisen sollten.

Die Herstellung der Proben, das jeweilige Mengenverhältnis von Impfmateriel zu geimpfter Nährflüssigkeit, die Bezeichnungen, die Aufbewahrungstemperaturen und Untersuchungszeiten sind vollständig die gleichen geblieben, wie bei den früheren Versuchen. Der Kürze halber haben wir die Untersuchungsergebnisse tabellarisch zusammengestellt.

Die Vorbereitungen zur Durchführung der Serie 40 waren folgende: Vorerst stellten wir aus einem Gemische von 70 g Kuhkot und 30 g Harn die Exkremte-Emulsion 16 her. Von dieser Exkr.-Emulsion mischten wir 95 g mit 5 g der Mühlenstaubprobe No. 1. Der so hergestellte benutzte Mühlenstaub bildete das Ausgangsmateriel für die Versuchsserie 40. Dieser benutzte Mühlenstaub wurde in 3 Portionen geteilt, zu 18° C gestellt und nach 12, 24, bzw. 48 Stunden untersucht. Zu Beginn des Versuches enthielt der benutzte Mühlenstaub pro g 3 815 000 Keime.

Für die Herstellung der Proben der Serie 41 brachten wir je  $\frac{1}{10}$  g dieses frischen benutzten Mühlenstaubes in 6 Erlenmeyerkölbchen, die je 100 ccm durch Wärme sterilisierte Milch enthielten, stellten diese zu 12° und zu 18° C und untersuchten sie nach 12, 24, bzw. 48 Stunden.

Durch die Impfung der Milch mit benutztem Mühlenstaub wurden ihr pro ccm 3815 Keime zugeführt.

In Serie 42 wurden die Proben folgendermaßen hergestellt: 95 g einer nach bekannter Weise hergestellten Exkremte-Emulsion (Exkr.-Emulsion 17) wurden mit 5 g der Mühlenstaubprobe No. 1 gut gemischt. Der so hergestellte benutzte Mühlenstaub wurde in der Menge von  $\frac{1}{10}$  g in 6, je 100 ccm frische Milch enthaltende Erlenmeyerkölbchen geimpft, diese zu 12° und zu 18° C gestellt und nach 12, 24, bzw. 48 Stunden untersucht.

Durch die Impfung der Milch mit benutzter Streu kamen in diese pro ccm 1344 Keime, so daß die geimpfte, frische Milch zu Beginn des Versuches 80 344 Keime pro ccm enthielt.

Für die Herstellung der Proben von Serie 43 benötigten wir 6, je 100 ccm frische Milch enthaltende Erlenmeyerkölbchen, von denen jedes mit  $\frac{1}{10}$  g frischen Mühlenstaubes No. 1, bzw. mit der Mikroflora dieser Materialmenge, geimpft wurde. Die Kölbchen wurden zu 12° und zu 18° C gestellt und die Untersuchung nach 24 Stunden, bzw. nach deutlich wahrnehmbarer makroskopischer Veränderung der Milch vorgenommen.

Tabelle der Vorprüfungen.

No. der Serie	Bezeichnung der Probe	Art der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit von der Einleitung des Versuches bis zur Untersuchung	Makroskopisches Aussehen	Säuregrad
	— II	Mühlenstaub No. 1 Exkr.-Emulsion 16	— —	— 2 Std.	— —	— —
	III	Benutzter Mühlenstaub: 95 g Exkr.-Em. 16 + 5 g Mühlenstaub No. 1.				
40	III a	Kuhkot-Harn-Emulsion	18°	12 Std.	—	—
	III b	16 vermengt mit Mühlenstaub 1 (benutzter Mühlenstaub)	18°	24 Std.	—	—
	III c		18°	48 Std.	—	—
41	IV a	100 ccm sterilisierte Milch geimpft mit $\frac{1}{10}$ g eines Gemisches von Mühlenstaub und Exkr.-Emulsion 16, also mit der Mikroflora von $\frac{1}{10}$ g benutzten Mühlenstaubes	12°	12 Std.	} Unverändert	3,4
	IV b		12°	24 Std.		3,5
	IV c		12°	48 Std.		3,7
	IV d		18°	12 Std.		3,4
	IV e		18°	24 Std.	} Milch gallertig geronnen	4,2
	IV f		18°	18 Std.		7,3
	II a V	Exkr.-Emulsion 17 Frische Milch 10	18° 18°	2 Std. 1 Std.	— —	— 3,2
	VI	Benutzter Mühlenstaub: 95 g Exkr.-Em. 17 + 5 g Mühlenstaub No. 1.				
42	VI a	Frische Milch 10 geimpft mit $\frac{1}{10}$ g eines Gemisches von Mühlenstaub 1 und Exkr.-Emulsion 17, also mit der Mikroflora von $\frac{1}{10}$ g benutzten Mühlenstaubes	12°	12 Std.	} Unverändert	3,2
	VI b		12°	24 Std.		3,4
	VI c		12°	48 Std.		3,7
	VI d		18°	12 Std.		3,3
	VI e		18°	24 Std.	} Milch feinflockig-gallertig geronnen, Gasblasen im Rahme	5,8
	VI f		18°	48 Std.		14,2
—	V a	Frische Milch 11	18°	1 Std.	—	3,3
43	VII a	Frische Milch 11 geimpft mit $\frac{1}{10}$ g bzw. der Mikroflora von $\frac{1}{10}$ g frischen Mühlenstaubes 1	12°	24 Std.	Unverändert	3,4
	VII b		12°	6 Tage		17,6
	VII c		18°	24 Std.	2mm breite Serumzone unter dem grünlichen Rahme gallertig geronnen	5,4
	VII d		18°	4 Tage		19,8
44	VIII	Sterilisierte Milch mit Mühlenstaub geimpft	Kam nicht zur Durchführung.			

Tabelle der Keimzahlen.

No. der Serie	Bezeichnung der Probe	Auf den Gelatineplatten Keime pro g oder ccm	Auf den Agarplatten Keime pro g oder ccm	In den Milchzuckeragar hohen Schichten Keime pro g oder ccm	Gesamtkeimzahl pro g oder ccm
	Mühlenstaub I	23 400 000	25 000 000	—	25 000 000
	Exkr.-Emulsion II	—	2 700 000	2 000 000	2 700 000
	III	—	—	—	3 815 000
40	III a	4 500 000	2 340 000	2 000 000	4 500 000
	III b	30 000 000	45 000 000	16 000 000	45 000 000
	III c	756 000 000	1 970 000 000	340 000 000	1 970 000 000
41	IV a	4 000	5 000	4 300	8 300
	IV b	21 000	32 000	50 000	50 000
	IV c	465 000	550 000	—	567 000
	IV d	5 500	16 000	11 200	16 400
	IV e	2 300	7 200	6 500	8 100
	IV f	15 400	48 000	35 000	48 000
	II a	4 000	88 000	15 000	99 000
	V	71 000	47 000	13 000	79 000
	VI	—	—	—	1 344 050
42	VI a	78 000	28 000	14 000	83 000
	VI b	1 630 000	600 000	800 000	2 060 000
	VI c	28 900 000	4 000 000	1 000 000	29 700 000
	VI d	49 000	81 000	4 000	81 000
	VI e	66 000 000	32 000 000	40 000 000	107 000 000
	VI f	730 000 000	960 000 000	800 000 000	1 690 000 000
	V a	—	20 700	120 000	136 000
43	VII a	—	34 000	32 000	34 000
	VII b	30 000 000	47 000 000	57 000 000	87 000 000
	VII c	150 000	870 000	8 200 000	8 370 000
	VII d	14 000 000	160 000 000	27 000 000	174 000 000

Da die frische ungeimpfte Milch pro ccm 136 000 Keime enthielt und durch die Impfung mit dem frischen Mühlenstaube weitere 25 000 Keime pro ccm hinzu kamen, so betrug der Keimgehalt der geimpften Milch zu Beginn des Versuches 161 000 Mikroben pro ccm.

Die Untersuchungsergebnisse des frischen und benutzten Mühlenstaubes, der frischen Exkremente-Emulsionen und der frischen Milchproben, sowie diejenigen der in den einzelnen Serien vorkommenden Versuche, finden wir in den vorstehenden Tabellen wiedergegeben (siehe p. 141 u. 142.)

Die Tabelle der Keimzahlen zeigt ein Bild, das demjenigen der analogen Versuche bei anderen Einstreumaterialien ganz ähnlich ist. Abgesehen von der mit benutztem Mühlenstaub geimpften, sterilen Milch, zeigen die bei 18° C aufgestellten Milchproben durchschnittlich bei gleicher Gärzeit bedeutend größere Keimzahlen, als die entsprechenden Proben bei 12° C, ein Resultat, welches die fördernde Wirkung der höheren Temperatur

Tabelle der Keimarten.

No. der Serie	Bezeichnung der Probe	Kokken %	Sarcinen %	Bact. herbicola aureum %	Bact. fluorescens %	Bact. aërogenes %	Bact. acidilactici %	Bact. coli %	Bact. Güntheri %	Bac. mesentericus %	Bac. megatherium %	Unbekannte Arten %	Total %
	Mühlenstaub No. 1 Exkr.-Emuls. II	— 7	—	92 —	— 1	— 2	8 83	— 6	— 1	—	—	—	100 100
	III	5	—	30	+ <sup>1)</sup>	1	59	4	1	—	—	—	100
40	III a	—	—	—	—	—	68	—	32	—	—	—	100
	III b	—	—	—	—	25	33	—	42	—	—	—	100
	III c	—	—	—	—	—	27	—	73	—	—	—	100
41	IV a	—	—	—	—	—	51	49	—	—	—	—	100
	IV b	—	—	—	—	—	90	—	10	—	—	—	100
	IV c	—	—	2	—	—	80	—	17	—	—	1	100
	IV d	—	—	—	—	—	97	—	3	—	—	—	100
	IV e	—	—	—	—	—	87	—	13	—	—	—	100
	IV f	—	—	—	—	—	54	—	46	—	—	—	100
	II a	17	—	—	—	—	7	55	—	9	4	8	100
	V	8	2	—	7	—	59	—	24	—	—	—	100
	VI	1	—	86	—	—	7	4	—	1	+	1	100
42	VI a	6	—	—	44	—	28	—	22	—	—	—	100
	VI b	—	—	—	34	—	38	—	28	—	—	—	100
	VI c	3	—	—	23	—	67	—	7	—	—	—	100
	VI d	3	—	—	40	—	53	—	4	—	—	—	100
	VI e	—	—	—	41	—	25	—	34	—	—	—	100
	VI f	—	—	—	15	—	59	3	23	—	—	—	100
	V a	1	—	—	—	—	13	—	86	—	—	—	100
43	VII a	—	—	2	—	—	—	—	98	—	—	—	100
	VII b	—	—	—	34	—	—	—	66	—	—	—	100
	VII c	—	—	—	2	—	—	—	98	—	—	—	100
	VII d	—	—	—	8	—	1	—	91	—	—	—	100

auf die Vermehrung der Spaltpilze illustriert. Während in der Serie 42 die in der frischen, geimpften Milch anwesenden Bakterien sowohl bei 12°, wie bei 18° C in den ersten 12 Stunden keine nennenswerte Vermehrung zeigten, dann aber bei beiden Temperaturen ein rasches Anwachsen der Bakterienzahl eintrat, ergab Serie 43 bei 12° C in den ersten 12 Stunden des Versuches zunächst eine starke Verminderung der Bakterienquantitäten. Die in Serie 41 mit benutzter Streu geimpfte, sterilisierte Milch zeigte bei 18° C Aufbewahrungstemperatur auffallender Weise nach 24 Stunden eine auf die Hälfte zurückgegangene Keimzahl, verglichen mit dem 12 Stunden alten Versuchsmaterial.

<sup>1)</sup> + bedeutet: Die Art ist vorhanden, macht aber weniger als ½% der Gesamtkeimzahl aus.

Im benutzten und aufgestellten Mühlenstaub selbst vermehrten sich die Mikroorganismen in den ersten 12 Stunden der Aufbewahrungszeit bei 18° C nur langsam, später aber sehr intensiv.

Die Verteilung der Arten in den Proben bietet erhöhtes Interesse, weshalb wir sie einer näheren Besprechung unterziehen wollen. Das Ausgangsmaterial, die Mühlenstaubprobe No. 1, war in erster Linie reich an *Bact. herbicola*, das sich jedoch in keiner Weise irgendwo Geltung verschaffen konnte; überall wurde es durch andere Arten verdrängt. Berücksichtigen wir das Mengenverhältnis von Streu zu Exkrement-Emulsion (5:95), so ist es begreiflich, daß namentlich die Mikroflora dieser letzteren ihren Einfluß auf die Milch geltend machen konnte. Die vielen, in dem Kuhkot-Harn-Gemische (Exkr.-Emulsion II) gefundenen Gasbildner, vom Typus des *Bact. acidilactici*, sind in Serie 40 in allen benutzten und aufbewahrten Mühlenstaubproben zu finden, erleiden jedoch dort in der Rangordnung hinsichtlich Mengenverhältnis der einzelnen Arten, gegen Schluß der Serie, eine Verschiebung zugunsten des *Bact. Güntheri*.

Kräftig entwickelt finden wir das *Bact. acidilactici* in den geimpften Proben der sterilisierten Milch von Serie 41. Auch dort vermag das *Bact. Güntheri* in Probe IVf, also wieder am Ende der Serie, das *Bact. acidilactici* etwas zurückzudrängen und fast die Hälfte aller Keime auf seinen Typus zu vereinigen.

Die Serie 42 erweckt den Eindruck, daß die in der Milch ursprünglich vorhandene Mikroflora für den weiteren Verlauf der Gärung in den einzelnen Proben maßgebend ist. Die zu den Versuchen herangezogene frische Milch 10 ist an und für sich reich an *Bact. acidilactici* (59 Proz. der Gesamtkeimzahl ausmachend) und das ebenfalls vorhandene *Bact. Güntheri* (24 Proz.) vermag den Gasbildner nicht wirksam zurückzudrängen.

In Serie 42 kommen sowohl *Bact. fluorescens*, wie *Bact. acidilactici* und *Bact. Güntheri* in allen Milchproben in stattlichen Mengen vor, ohne daß es der einen oder der andern Art gelingen würde, zu besonderer Machtentfaltung zu gelangen. Zuzufolge Vorkommens vieler Gasbildner müssen wir die Gärungsvorgänge in den Milchproben dieser Serie als unvorteilhaft bezeichnen; doch dürfen wir die Schuld weniger dem eingebrachten Impfmateriale, als vielmehr der an und für sich schon bakteriologisch schlechten Beschaffenheit der frischen Milch zuschieben.

Wesentlich bessere Zusammensetzung zeigte die in Serie 43 verwendete frische Milch, die hauptsächlich *Bact. Güntheri* und bedeutend weniger *Bact. acidilactici* aufwies. Dank der kräftigen Vermehrung des *Bact. Güntheri*, machten diese Milchproben eine reine Milchsäuregärung durch, abgesehen von Probe VIIb, in der das *Bact. fluorescens* eine Verfärbung des Rahmes, nebst beträchtlicher Serumausscheidung, bewirkte. Die mit der kleinen Menge von  $\frac{1}{10}$  g Mühlenstaub in die Milch gebrachte Mikroflora vermochte keinen Einfluß auf den Verlauf der Gärung auszuüben.

#### b) Versuche mit den Mühlenstaubproben No. 2 und No. 4.

Analog der Reihe von Versuchen mit Mühlenstaubprobe No. 1, wurde eine solche mit Mühlenstaubprobe No. 2 durchgeführt. Die jeweils in 100 ccm frische oder sterilisierte Milch verbrachte Menge frischen oder benutzten Mühlenstaubes betrug in diesen Versuchen  $\frac{1}{100}$  g.



In Wegfall kam Serie 45: Mühlenstaub No. 2, vermengt mit Exkr.-Emulsion, ebenso die Serie: Sterilisierte Milch, geimpft mit frischem Mühlenstaub, an deren Stelle wir einen Versuch von frischer Milch, geimpft mit Mühlenstaubprobe No. 4, die sich als reich an Gasbildnern erwiesen hatte, eingeschaltet haben.

Die Herstellung der Proben in Serie 46 ging folgendermaßen vor sich: Durch Mischung von 70 g Kuhkot mit 30 g Kuhharn stellten wir 100 g einer sog. Exkrement-Emulsion (Exkr.-Em. 18) her. 95 g dieser Exkr.-Emulsion 18 wurden mit 5 g Mühlenstaub No. 2 gut durchmischt und auf diese Weise 100 g benutzten Mühlenstaubes hergestellt. Von diesem frisch hergestellten, benutzten Mühlenstaube brachten wir je  $\frac{1}{100}$  g, bzw. die Mikroflora dieser Menge in 6, jeweils 100 ccm durch Wärme sterilisierte Milch enthaltende Erlenmeyerkölbchen. Die Kölbchen stellten wir zu 12 und 18°C und nahmen nach 12, 24, bzw. 48 Stunden die bakteriologische Untersuchung der Milchproben vor.

Die frisch geimpfte, sterilisierte Milch enthielt zu Beginn der Versuche 376 Keime pro ccm.

Die in Serie 47 verwendete Exkrement-Emulsion war auf gleiche Weise hergestellt worden, wie die in Serie 46 verwendete Exkr.-Emulsion. 95 g der Exkr.-Emulsion (Exkr.-Emulsion 19) wurden mit 5 g Mühlenstaub No. 2 gut durchmischt und von diesem frisch hergestellten, benutzten Mühlenstaube je  $\frac{1}{100}$  g in 6, mit 100 ccm frischer Milch beschickte Erlenmeyerkölbchen verbracht. Die Zeiten von der Herstellung bis zur Untersuchung der Proben, sowie die Aufbewahrungstemperaturen waren die in Serie 46 angegebenen.

Die ungeimpfte, frische Milch enthielt pro ccm 131 000 Keime. Durch das Impfen mit benutztem Mühlenstaub kamen weitere 373 pro ccm hinzu, so daß sich die Gesamtkeimzahl der geimpften, frischen Milch zu Beginn der Versuche auf 131 373 Keime pro ccm stellte.

Für die Herstellung der Proben von Serie 48 verwendeten wir 6, je 100 ccm frische Milch 13 enthaltende Erlenmeyerkölbchen, von denen jedes mit  $\frac{1}{100}$  g frischen Mühlenstaubes No. 2, bzw. mit der Mikroflora dieser Menge geimpft wurde. 3 Kölbchen kamen bei 12°, 3 bei 18°C zur Aufbewahrung, während die Untersuchung nach 24 Stunden, bzw. im Zeitpunkte der deutlich wahrnehmbaren makroskopischen Veränderung der Milch erfolgte.

Die mit dem Mühlenstaube geimpfte frische Milch enthielt zu Beginn des Versuches 656 190 Keime pro ccm.

Die Herstellung der Proben der Serie 49 erfolgte in gleicher Weise, wie dies für Serie 48 geschehen war. An Stelle der frischen Milch 18 wurde die frische Milch 19 verwendet, und als Impfmenge auf 100 ccm frische Milch benutzten wir  $\frac{1}{100}$  g des Mühlenstaubes No. 4, bzw. die Mikroflora dieser Menge Mühlenstaub.

Durch die Impfung mit Mühlenstaub wurden der frischen Milch, die ungeimpft 1 325 000 Keime pro ccm enthielt, weitere 30 500 pro ccm zugeführt, so daß die geimpfte frische Milch zu Beginn der Versuche 1 355 500 Mikroben pro ccm in sich barg.

Nachstehende Tabellen enthalten die Untersuchungsergebnisse des frischen und benutzten Mühlenstaubes, der frischen Milchproben und Exkrement-Emulsionen, sowie die Ergebnisse der in den einzelnen Serien gemachten Untersuchungen:

Tabelle der Vorprüfungen.

No. der Serie	Bezeichnung der Probe	Art der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit von der Herstellung der Probe bis zur Untersuchung	Makroskopisches Aussehen	Säuregrad
—	—	Mühlenstaub No. 2	—	—	—	—
—	II	Exkr.-Emulsion 18	—	2 Std.	—	—
45	III	Exkr.-Emulsion vermengt mit Mühlenstaub No. 2 (benutzter Mühlenstaub)	Kam nicht zur Durchführung			
—	IV	Benutzter Mühlenstaub: 95 g Exkr.-Em. 18 + 5 g Mühlenstaub No. 2				
46	IV a	100 ccm sterilisierte Milch geimpft mit $\frac{1}{100}$ g eines Gemisches von Mühlenstaub No. 2 und Exkr.-Emulsion 18, also mit der Mikroflora von $\frac{1}{100}$ g benutzten Mühlenstaubes	12°	12 Std.	Unverändert	3,2
	IV b		12°	24 Std.		3,3
	IV c		12°	48 Std.		3,6
	IV d		18°	12 Std.		3,2
	IV e		18°	24 Std.		3,6
	IV f		18°	48 Std.		5,3
—	II a	Exkr.-Emulsion 19	18°	2 Std.	—	—
—	V	Frische Milch 12	18°	1 Std.	—	3
—	VI	Benutzter Mühlenstaub: 95 g Exkr.-Em. 19 + 5 g Mühlenstaub No. 2				
47	VI a	Frische Milch 12 geimpft mit $\frac{1}{100}$ g eines Gemisches von Mühlenstaub No. 2 und Exkr.-Emulsion 19, also mit der Mikroflora von $\frac{1}{100}$ g benutzten Mühlenstaubes	12°	12 Std.	Unverändert	3
	VI b		12°	24 Std.	Unverändert	3
	VI c		12°	48 Std.	Ranziger Geruch, sonst unverändert	5,2
	VI d		18°	12 Std.	Unverändert	3
	VI e		18°	24 Std.	Milch gallertig geronnen mit saurem Geschmack	14,7
	VI f		18°	48 Std.	Gallertig geronnen, ranziger Geruch	18,4
—	V a	Frische Milch 13	18°	1 Std.	—	3,1
48	VII a	Frische Milch 13 geimpft mit $\frac{1}{100}$ g, bzw. mit der Mikroflora von $\frac{1}{100}$ g Mühlenstaub No. 2	12°	24 Std.	Unverändert	3,4
	VII b		12°	3 Tage	Gallertig geronnen, Rahm grünlich verfärbt	18,3
	VII c		18°	24 Std.	Feinflockig geronnen	15,4
	VII d		18°	4 Tage	Verunglückt	—
—	V b	Mühlenstaub No. 4 Frische Milch 14	— 18°	— 1 Std.	— —	— 3,1
49	VII a	Frische Milch 14 geimpft mit $\frac{1}{100}$ g, bzw. mit der Mikroflora von $\frac{1}{100}$ g Mühlenstaub No. 4	12°	24 Std.	Unverändert	3,1
	VII b		12°	6 Tage	Feinflockig geronnen, 1 mm breite Serumzone unter der Rahmdecke	26,5
	VII c		18°	24 Std.	Gallertig geronnen	24,1
	VII d		18°	4 Tage	Verunglückt	—

Tabelle der Keimzahlen.

No. der Serie	Bezeichnung der Probe	Auf den Gelatineplatten Keime pro g oder ccm	Auf den Agarplatten Keime pro g oder ccm	In den Milchzuckeragar hohen Schichten Keime pro g oder ccm	Gesamtkeimzahl pro g oder ccm
—	Mühlenstaub 2	31 500 000	61 200 000	—	61 900 000
—	II	—	620 000	90 000	710 000
45	III	—	—	—	—
—	IV	—	—	—	3 769 500
46	IV a	2 200	2 300	—	2 500
	IV b	200	2 400	2 000	3 700
	IV c	10 000	32 000	15 000	32 000
	IV d	4 000	15 600	16 000	22 900
	IV e	—	334 000	150 000	334 000
	IV f	—	90 000 000	—	90 000 000
—	II a	430 000	600 000	400 000	670 000
—	V	110 000	92 000	17 000	131 000
—	VI	—	—	—	3 731 500
47	VI a	—	150 000	120 000	205 000
	VI b	13 000 000	1 400 000	250 000	13 100 000
	VI c	140 000 000	170 000 000	8 000 000	184 000 000
	VI d	270 000	200 000	140 000	350 000
	VI e	500 000 000	230 000 000	200 000 000	696 000 000
	VI f	1 800 000 000	2 000 000 000	300 000 000	3 120 000 000
—	V a	4 400 000	650 000	48 000	650 000
48	VII a	25 000 000	4 900 000	1 500 000	26 500 000
	VII b	1 700 000 000	1 600 000 000	180 000 000	1 900 000 000
	VII c	400 000 000	450 000 000	300 000 000	458 000 000
	VII d	—	—	—	—
—	Mühlenstaub 4	70 000 000	300 000 000	15 000 000	305 000 000
—	V b	74 000	180 000	1 200 000	1 325 000
49	VII a	13 000 000	350 000 000	1 800 000	350 000 000
	VII b	1 000 000 000	1 400 000 000	300 000 000	2 000 000 000
	VII c	140 000 000	1 300 000 000	90 000 000	1 370 000 000
	VII d	—	—	—	—

Aus der Keimzahl-Tabelle ersehen wir, daß in allen Serien die bei 18° C aufbewahrten Milchproben höhere Keimzahlen aufweisen, als dies bei den zu 12° C gestellten Proben der Fall ist.

In den Versuchen früherer Kapitel konnten wir hier und da in den 12 bis 24 Stunden alten Milchproben ein Zurückgehen der Quantität der Keime gegenüber der ursprünglichen Keimzahl der frisch hergestellten Proben beobachten; dabei ist zu bemerken, daß dieser Vorgang an keine bestimmte Aufbewahrungstemperatur (12 oder 18° C) gebunden erschien. Ein solches Verhalten der Mikroflora konnte in keiner der hier zu besprechenden Serien

Tabelle der Keimarten.

No. der Serie	Bezeichnung der Probe	Kokken	Sarcinen	Bact. herbicola aureum	Bact. fluorescens	Bact. Güntheri	Bact. aërogenes	Bact. acidi lactici	Bact. coli	Bact. megatherium	Bact. mesentericus	Bact. mycoides	Actinomyceten	Mycelpilze	Unbekannte Arten	Total
		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
—	Mühlenstaub 2	—	—	98	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
—	II	3	—	—	—	13	—	77	—	7	—	—	—	—	—	100
45	III	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	IV	1	—	80	2	2	—	13	—	2	—	—	—	—	—	100
46	IV a	—	—	88	—	12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
	IV b	—	—	30	6	—	—	54	10	—	—	—	—	—	—	100
	IV c	—	—	41	—	—	—	59	—	—	—	—	—	—	—	100
	IV d	—	—	12	—	2	—	69	—	17	—	—	—	—	—	100
	IV e	—	—	8	—	33	—	51	—	8	—	—	—	—	—	100
	IV f	—	—	15	—	40	—	30	15	—	—	—	—	—	—	100
—	II a	15	—	—	5	—	—	26	—	16	—	—	36	—	2	100
—	V	14	—	—	26	53	—	6	—	—	1	—	—	—	—	100
—	VI	3	—	81	2	—	—	4	—	3	—	—	6	—	1	100
47	VI a	53	—	—	—	23	—	24	—	—	—	—	—	—	—	100
	VI b	—	2	—	15	34	—	49	—	—	—	—	—	—	—	100
	VI c	—	—	—	55	31	—	8	—	6	—	—	—	—	—	100
	VI d	23	—	—	3	66	—	8	—	—	—	—	—	—	—	100
	VI e	8	—	—	21	28	—	35	8	—	—	—	—	—	—	100
	VI f	3	—	—	40	45	—	12	—	—	—	—	—	—	—	100
—	V a	15	—	—	—	80	—	3	—	2	—	—	—	—	—	100
48	VII a	1	—	4	3	86	—	6	—	—	—	—	—	—	—	100
	VII b	—	—	—	5	53	—	42	—	—	—	—	—	—	—	100
	VII c	—	—	—	2	98	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
	VII d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
—	Mühlenstaub 4	7	—	65	2	—	—	10	16	—	—	—	—	—	—	100
—	V b	3	—	—	1	90	1	5	—	—	—	—	—	—	—	100
49	VII a	3	—	—	1	80	—	14	2	—	—	—	—	—	—	100
	VII b	—	—	—	15	15	—	—	70	—	—	—	—	—	—	100
	VII c	1	—	—	1	78	—	17	—	—	—	—	1	2	—	100
	VII d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

beobachtet werden. Überall setzte die Vermehrung der Keime gleich zu Beginn der Versuche ein und stieg dann bis zu Ende der Gärzeit meistens noch beträchtlich.

Da sowohl die Mühlenstaubprobe No. 2 wie auch die Mühlenstaubprobe No. 4 eine sehr große Menge Bakterien pro g enthielt, fernerhin die zur Verwendung gelangten Milchproben und Exkrememente-Emulsionen ebenfalls reichliche Keimmengen in sich bargen, so wird es uns nicht wundern, wenn

auch in den Versuchen der einzelnen Serien überaus hohe Keimzahlen anzutreffen sind.

Hinsichtlich der Verteilung der Arten können wir beobachten, wie in Serie 46, wo durch Wärme keimfrei gemachte Milch durch benutzten Mühlenstaub infiziert worden war, das im Mühlenstaub No. 2 reichlich vorhandene *Bact. herbicola aureum* in allen Milchproben in ansehnlicher Menge auftritt; dabei ist ein Bevorzugtwerden der kühl aufbewahrten Milchproben (12° C) durch das *Herbicola* deutlich ersichtlich.

Neben dieser Art treffen wir ebenfalls häufig, ja prozentual sogar meist überwiegend, das wohl der Exkr.-Emulsion entstammende *Bact. acidilactici*, in 4 Fällen *Bact. Güntheri* und zweimal unvermutet auch *Bact. coli*, sowie *Bac. megatherium*.

Die für Serie 47 verwendete frische Milch 12 enthielt neben *Bact. Güntheri* schon zu Anfang reichlich *Bact. fluorescens* und auch Kokken, beides Mikroorganismen, die sich in den Milchproben dieses Versuches leidlich gut entwickelt haben, was uns nicht wundert, da auch das Impfmateriäl, die Exkr.-Emulsion und teilweise auch die Streu diese Mikroben beherbergten und sie der Milch zugeführt haben. Daß sich die Kokken meistens nur in den 12 Stunden lang aufbewahrten Proben mit Erfolg halten können, ist eine Beobachtung, der wir in früheren Versuchen schon öfters begegneten und die auch hier wieder gemacht werden konnte. Während die frische Milch nur bescheidene Quantitäten von *Bact. acidilactici* enthielt, zeigte dieser Spaltpilz nach erfolgter Einimpfung der benutzten Streu in die Milch kräftige Entwicklung. Daß das *Bact. Güntheri* in der Mikroflora der geimpften, aufgestellten Milch eine Hauptrolle spielt, wundert uns nicht, da die frische Milch schon reich an diesem Spaltpilz war; das *Bact. Güntheri* bewirkte denn auch die gallertige Gerinnung und die bedeutende Säurezunahme bei den Proben VIc und VI f.

In Serie 48 hatten wir insofern günstige Vorbedingungen für das Zustandekommen einer reinen Milchsäuregärung, als die frische Milch ungeimpft 80 Proz. *Bact. Güntheri* enthielt, das in den 24 Stunden alten Proben mit Erfolg das Feld behaupten konnte und den voraussichtlich mit der Streu eingeführten Fluorescenten und andern Arten wenig Spielraum ließ. Daß Keime, die zu Beginn des Aufstellens nur spärlich in der Milch vorkommen, wie in dieser Serie beispielsweise das *Bact. acidilactici*, nach längerer Aufbewahrungszeit einer Probe mit anderen Arten kräftig in Konkurrenz treten können, ersehen wir aus den Befunden von Probe VIIb.

Die Frage, ob mikrofloristisch ungünstig zusammengesetztes Streumateriäl, in der Menge von  $\frac{1}{100}$  g in 100 ccm frische Milch geimpft, den Gärverlauf in ihr unter Umständen nachteilig beeinflussen könne, müssen wir nach den Resultaten von Serie 49 in bejahendem Sinne beantworten. In dieser Serie haben wir einen mit ziemlich viel *Bact. acidilactici* und *Bact. coli* versehenen Mühlenstaub der frischen Milch einverleibt, und obwohl diese reichlich *Bact. Güntheri* enthielt, kamen in Probe VIIb die der Streu entstammenden Coli-Bakterien mächtig zur Entwicklung; ebenso hatten die Fluorescenten eine Anreicherung erfahren. Die 24 Stunden alten Proben dieser Serie wiesen in der Hauptsache *Bact. Güntheri* auf, neben dem andere Arten nur in bescheidenem Maße vertreten waren.

Kurze Zusammenfassung der wichtigsten Untersuchungsergebnisse des Abschnittes:

c) Einwirkung von frischem und benutztem Mühlenstaub auf frische und sterilisierte Milch.

Die in den einzelnen Serien des Abschnittes besprochenen Ergebnisse seien hier in Kürze in folgende Sätze zusammengefaßt:

1. Frischer Mühlenstaub, in der angewendeten Menge von  $\frac{1}{10}$  bzw.  $\frac{1}{100}$  g in 100 ccm frische Milch verbracht, vermochte nach einer Zeitdauer von 24 Stunden und bei einer Aufbewahrungstemperatur von 12° und 18° C meistens keinen auffallend schädigenden Einfluß auf die Gärungsvorgänge in der Milch auszuüben. Das in der ungeimpften, frischen Milch schon reichlich vertretene *Bact. Güntheri* bildete in den 24 Stunden alten Milchproben, auch nach der Impfung mit Mühlenstaub, den Hauptbestandteil der Mikroflora. In den mehrere Tage alten, bei 12° C aufbewahrten Milchproben war die Zusammensetzung der Mikroflora insofern eine ungünstige geworden, als sich in dieser Zeit in einem Falle außer dem *Bact. Güntheri* noch zahlreiche Fluorescenten und in 2 andern Fällen namentlich die gasbildenden Milchsäurebakterien *Bact. acidilactici* und *Bact. coli*, reichlich in der Milch entwickelt hatten. Da der Mühlenstaub die genannten Gasbildner in größerer Menge enthielt, so dürfen wir schließen, daß eine Verunreinigung unserer verwendeten frischen Milch mit diesem Staub für die normale Säuerung der Milch nachteilig war.

2. Benutzter Mühlenstaub, hergestellt aus einer Mischung von 95 g Exkr.-Emulsion und 5 g Mühlenstaub, zu  $\frac{1}{10}$  bzw.  $\frac{1}{100}$  g in 100 ccm frische Milch verbracht, vermochte keinerlei Einfluß auf die Stoffumsetzungen der Nährflüssigkeit auszuüben.

Die bei 12 und 18° C während 12, 24 bzw. 48 Stunden aufbewahrten geimpften Milchproben enthielten in wechselndem Mengenverhältnisse hauptsächlich 3 Arten: *Bact. fluorescens*, *Bact. Güntheri* und *Bact. acidilactici*; zweimal traten in diesen Proben auch Kokken in größerer Menge auf. Dabei ist zu bemerken, daß diese Spaltpilzarten schon in der ungeimpften, frischen Milch die hauptsächlichsten Vertreter der Mikroflora waren. Das mit dem benutzten Mühlenstaube in die Milch verbrachte *Bacterium herbicola aureum* konnte in keiner der Proben in größerer Menge nachgewiesen werden.

3. In einer mit benutztem Mühlenstaub geimpften, sterilisierten Milch entwickelte sich nach 12, 24, bzw. 48stündiger Aufbewahrungszeit und einer Temperatur von 12 und 18° C in überwiegendem Maße *Bact. acidilactici*. In einem 2. Versuche bildeten in den bei 12° C aufbewahrten Milchproben *Bact. herbicola aureum* und *Bact. acidilactici*, in den zu 18° C gestellten Proben *Bact. Güntheri*, *Bact. acidilactici* und in bescheidenem Maße *Bact. herbicola aureum*, *Bact. coli* und *Bac. megatherium* die wichtigsten Vertreter der Mikroflora.

4. Ein bei 18° C während 12, 24 bzw. 48 Stunden aufbewahrter benutzter Mühlenstaub zeigte gleich zu Beginn des Versuches eine Keimvermehrung, die innerhalb 48 Stunden von 3,8 Mill. auf 1970 Mill. answoll. Die Mikroflora dieses Mühlenstaubes wies 3 Arten auf, von denen *Bact. acidilactici* zu Anfang und *Bact. Güntheri* am Ende der Versuchszeit die Hauptmasse der Mikroben bildeten, indessen *Bact. aërogenes* einzig nach 24 Stunden nachweisbar war, dabei  $\frac{1}{4}$  aller Keime jener Probe ausmachend.

## 6. Untersuchungen an Torfstreu.

### A. Einleitende Gedanken und bisherige Forschungsergebnisse.

Mit dem Zurückgehen des Getreidebaues in der Schweiz wurde auch die Strohproduktion vermindert und dadurch der Landwirtschaft ein wichtiges Einstreumaterial, das Stroh, teilweise entzogen. Da der Bedarf an Streumitteln im Lande nicht bloß der gleiche geblieben war, sondern sich zufolge vermehrter Viehhaltung noch bedeutend gesteigert hatte, so war man genötigt, sich nach passenden Ersatzmaterialien umzusehen. Als solchen Ersatz wurde zuerst Schwarzkraut herangezogen und als sie den Bedarf nicht mehr zu decken vermochte, brach sich ein neues Produkt, die Torfstreu und der Torfmull, siegreich Bahn.

Heutzutage ist die Verwendung von Torfstreu sowohl bei der Pferdeviehhaltung in gleichem Maße geschätzt, da sie einerseits über eine große Aufsaugungskraft verfügt, andererseits befähigt ist, das Ammoniak mehr oder weniger zu binden.

Gewöhnlich wird der Torf zu Beginn des Winters gestochen, dann zum Durchfrieren liegen gelassen, im Frühjahr, wenn er trocken ist, auseinander gerissen und gesiebt. Die auf dem Siebe zurückbleibende, grobfaserige Pflanzenmasse trägt die Bezeichnung „Torfstreu“, während das mehr oder weniger feine, durchgehende Material „Torfmull“ genannt wird.

Zur Gewinnung von Torfstreu kann entweder Hochmoortorf oder Flachmoortorf Verwendung finden. Die bessere Streu liefert im allgemeinen der Hochmoortorf, indem die ihn zusammensetzenden Pflanzen, teils Material von faseriger Beschaffenheit geben (*Eriophorum*, *Calluna*, *Andromeda*, *Oxycoocus* usw.), teils in ihren Resten sehr hohe Aufsaugungskraft für Flüssigkeiten besitzen (*Sphagnum*-Spezies), während Flachmoortorf staubreicher Material birgt und deshalb bei der Verwendung stärkere Staubentwicklung bei kleinerem Aufsaugvermögen hervorruft.

Bei den bisher von uns untersuchten Streumaterialien stand die vorkommende Mikroflora größtenteils unter dem Einflusse des ungehinderten Luftzutrittes. Anders dagegen bei der Torfstreu, wo wir abweichende Verhältnisse antreffen, die auf Zahl und Art der Mikroorganismen weitgehenden Einfluß auszuüben vermögen. Der Moorboden ist charakteristischer Weise sehr wasserreich, was zur Folge hat, daß die Durchlüftung des Bodens nur eine mangelhafte ist und die Zersetzung der organischen Substanzen unvollständig vor sich geht. Die Zwischenprodukte dieser Zersetzungen führen den Namen Torf und sind mit saurer Reaktion ausgerüstet. Findet die Zersetzung der Pflanzenreste bei weniger reichlichem Vorhandensein von Wasser statt, so entstehen jene schwarzbraun bis schwarz gefärbten Abbauprodukte, die wir als Humus bezeichnen; sie können entweder sauer oder neutral reagierend sein. Über die chemische Natur der Humusstoffe ist man sich noch nicht im klaren. Einzelne Forscher treten für ihre eigentliche Säurenatur ein, andere halten sie für Körper kolloidaler Natur und sprechen von absorptiv ungesättigten Humusstoffen (sauer reagierend), denen die absorptiv gesättigten Humusstoffe, mit neutraler Reaktion, gegenüber gestellt werden. Nässe, saure Reaktion, Sauerstoffarmut und bescheidene Temperaturgrade sind die hauptsächlichsten Faktoren, welche für die Existenzbedingungen der Mikroorganismen des Torfes grundlegend sind und eine spezielle Anpassung der Lebewesen an diese dem Torfe innewohnenden Eigenschaften verlangen.

Diesen Umstand einigermaßen berücksichtigend, haben wir bei unseren Torfstreuuntersuchungen, außer den bisher von uns verwendeten Nährböden, zur Züchtung der Bakterien noch spezielle Torf-Nährböden in Anwendung gebracht, um so den spezifischen Ernährungsverhältnissen der Torforganismen Rechnung zu tragen.

Bei der Durchsicht der einschlägigen Literatur sind wir nur wenigen Arbeiten, die sich mit der Erforschung der Bakterienflora der Torfstreu befassen, begegnet. *Fraenkel* und *Klipstein* (32) erwähnen, daß die Zahl der im Torfmull enthaltenen Organismen auffallend gering sei. Nach ihrer Ansicht steht dieser Befund in bemerkenswertem Gegensatze zu dem sonstigen Keimreichtum der Bodenoberfläche; da der Torfmull von der Oberfläche der Torfmoore gewonnen wird, könnte man darin eine größere Zahl von Mikroorganismen vermuten. Genannte Autoren ermittelten ferner, daß der Torfmull sowohl, wie seine heiß und kalt bereiteten wässerigen Auszüge, eine nicht unbedeutende bakterientötende Wirkung ausüben, wobei die Stärke dieser Wirkung vom Säuregehalt abhängig sei und durch Vermehrung der Säure erhöht, durch ihre Verminderung aber erniedrigt werden könne. Nach *Gärtner* (34) übt die saure Reaktion des Torfes eine schwache desinfizierende Wirkung auf Cholera- und Typhuskeime aus. Über die bakteriologischen Verhältnisse von unkultiviertem und kultiviertem Hochmoorboden orientiert uns eine größere Arbeit von *Fabricius* und *v. Feilitzen* (27), die ebenfalls die Artenarmut von unkultiviertem Hochmoorboden, beruhend auf dessen saurer Reaktion, hervorhebt. Zahlreich sind die Untersuchungen, die sich über die Nitrifikation und die Wirkung von Kalkdüngungen in Moorböden äußern; andere Forscher verfolgten die Zersetzungen des Torfes nach der chemischen und biologischen Seite und erörtern weitere, mit Torf zusammenhängende Fragen. Eine Zusammenfassung der diesbezüglichen Veröffentlichungen treffen wir in der Arbeit von *G. A. Ritter* (73), der in ausführlicher Weise u. a. die biologischen Verhältnisse der Hoch- und Niedermoor- moore bespricht. Der Kürze halber möchten wir auf diese Arbeit und das dort Gesagte verweisen.

Über den Zusammenhang zwischen der Bakterienflora von Torfstreu und der Mikroflora der gewonnenen Milch erwähnen *Backhaus* und *Appel* (3), daß sie bei ihren Untersuchungen dann vorwiegend sporenbildende Stäbchen in der Milch angetroffen haben, wenn Torf im Stalle gestreut wurde.

Bei Verwendung von Torfstreu erzielten *Backhaus* und *Cronheim* (4) regelmäßig eine keimärmere Milch, als bei Gebrauch von Strohhalm unter sonst gleich bleibenden Produktionsbedingungen.

Angaben in der uns zugänglichen Literatur hinsichtlich Keimzahlen und Keimarten, wie sie bei Untersuchungen von Torfboden und Torfstreu vorgefunden wurden, werden wir bei der Erläuterung unserer Befunde noch näher besprechen.

## B. Untersuchung einzelner Torfstreuproben.

In Anbetracht der eigenartigen chemischen und physikalischen Beschaffenheit des Moorbodens, die eine spezielle Anpassung der darin lebenden Organismen an diese Verhältnisse verlangt, schien es uns angebracht, beim Kultivieren von Torfmikroorganismen diesem Umstande Rechnung zu tragen. Aus diesem Grunde ermittelten wir durch Vorversuche und Verwendung



extra hergestellter sog. Torfnährböden diejenigen Nährmedien, auf denen Torfbakterien besonders gut zu gedeihen vermögen. Vor uns hatten schon andere Forscher den erwähnten Weg der Züchtung von Torfbakterien beschritten. So erhielt Perotti (67) bei seinen Bodenuntersuchungen die höchsten Keimzahlen auf einem Zucker-Torfextrakt-Nährboden. Einen speziell für *Streptothrix odorifera* geeigneten Torfextraktnährboden stellte Salzmänn (74) her.

Der Gang unserer Voruntersuchung war folgender:

Wir kochten 200 g Torfstreu mit 1 Liter destilliertem Wasser 1 Stunde im Dampftopf und filtrierten nach erfolgter Abkühlung die Flüssigkeit. Dieser Absud, kurzweg „Torfabsud“ genannt, bildete die Grundlage für die Zubereitung der Torfnährböden, von denen wir 4 Variationen herstellten.

1. Torfnährboden:  $\frac{1}{2}$  l Torfabsud wurde mit  $2\frac{1}{2}$  g Pepton Witte versetzt und mittels 50 g Gelatine versteift. Dem Nährboden wurde so lange tropfenweise Natronlauge zugesetzt, bis eingetauchtes Curcuma papier sich schwach braun färbte.

2. Torfnährboden: Die Zusammensetzung entspricht derjenigen des ersten Nährbodens, dagegen unterblieb das Zufügen von Natronlauge.

3. Torfnährboden: Zusammensetzung wie beim 1. Nährboden, aber das Zufügen von Natronlauge beschränkte sich auf jene Menge, welche für die Neutralisation des Gelatinezusatzes, nicht aber des Torfabsud, notwendig war, so daß der fertiggestellte Nährboden noch ausgesprochen sauer reagierte.

4. Torfnährboden: Die Herstellung entspricht derjenigen des zuerst gewonnenen Torfnährbodens, mit dem einzigen Unterschiede, daß der Peptonzusatz unterblieb.

Erwähnt sei noch, daß für die eine Serie von Nährböden Flachmoortorf-Absud, für die andere Hochmoortorf-Absud verwendet wurde. Nach Abfüllen der Nährböden in Reagenzgläsern und darauffolgender Sterilisation waren sie gebrauchsfertig.

Nach Zerreiben je einer bestimmten Quantität Flach- oder Hochmoortorf-Probe mit sterilem Wasser und Herstellen der nötigen, dezimal gehaltenen Verdünnungen, wurden Plattenkulturen angelegt und zu Zimmertemperatur gestellt. Dabei wurden als Nährmedien die oben genannten Torfgelatinenährböden gewählt, dergestalt, daß für die Flachmoortorfproben die Flachmoortorfgelatinenährböden und für die Hochmoortorfproben die entsprechenden Substrate aus Hochmoortorf zur Verwendung gelangten. Außerdem verwendeten wir noch vergleichsweise gewöhnliche Fleischwasserpeptongelatine, sowie Molkengelatine als Nährböden zum Anlegen weiterer Plattenkulturen.

Da die Impfmengen bei allen Nährböden gleich groß gewählt wurden, so bekamen wir nun in der Menge der gewachsenen Kolonien Vergleichszahlen.

Die gewonnenen Untersuchungsergebnisse seien hier wiedergegeben:

Die in 1 g Torfstreu ermittelte Menge Bakterien betrug bei Anwendung von:

		in der Hochmoor- torfstreu:	in der Flachmoor- torfstreu:
Torfgelatinenährboden 1 . . .	28 000 Keime	23 000 Keime	
„ „ 2 . . .	370 000 „	120 000 „	
„ „ 3 . . .	29 000 „	20 000 „	
„ „ 4 . . .	19 000 „	18 000 „	
Fleischwasserpeptongelatine . .	59 000 „	55 000 „	
Molkengelatine . . . . .	181 000 „	750 000 „	

Es sei noch hervorgehoben, daß sich diese Zahlen nur auf die Bakterien beziehen, während die Mycelpilze, die meistens auf den an Bakterienkolonien armen Plattenkulturen in größerer Menge vorkamen, unberücksichtigt blieben.

Schlußfolgernd aus diesem mehrmals durchgeführten Vorversuche, benutzten wir bei unsern Untersuchungen als am geeignetsten erscheinende Gelatinenährböden: a) den Torfnährgelatineboden 2, den sog. nicht neutralisierten Torfabsud-Pepton-Gelatinenährboden (der Einfachheit halber in der Torfstreu-Keimzahltablette kurzweg „Torfgelatine“ genannt), b) die gewöhnliche Fleischwasserpeptongelatine und c) die Molkengelatine.

Trotzdem die Zahl der auf der gewöhnlichen Gelatine gewachsenen Kolonien eine relativ geringe war, verwendeten wir sie dennoch als Nährboden, weil ihr speziell die peptonisierenden Torfbakterien in auffälliger Weise den Vorzug geben. Wir wollten auf diese Weise nicht allein den Keimmengen, sondern auch der Artzugehörigkeit der Bakterien gebührend Rücksicht tragen.

Den Torfgelatinenährböden entsprechend, stellten wir auch 4 resp. 8 Torfagarnährböden her, wobei als einziger Unterschied in der Gewinnungsweise an Stelle der 10 Proz. Gelatine 1,5 Proz. Agar-Agar zur Versteifung des Torfabsudes Verwendung fanden. Die übrigen Zusätze und das Verhalten hinsichtlich der Neutralisation mittels Natronlauge blieben die gleichen.

Zur Kultivierung der Torfbakterien auf Platten bei 30° C eignete sich am besten neben dem Traubenzuckeragar, oder dem Fleischwasserpeptonagar mit 2 Proz. Traubenzuckerzusatz, der Torfabsud-Pepton-Agarnährboden ohne Neutralisation, den wir späterhin kurzweg als Torfagarnährboden bezeichneten. Diesen sog. Torfagar brachten wir neben Milchsüßwasseragar auch bei den zu 37° C gestellten hohen Schichtkulturen, mit denen wir ebenfalls solche Vorversuche mit entsprechenden Resultaten angestellt hatten, in Anwendung.

Durch Verwendung der Torfnährböden ist es uns, wie wir sehen werden, zweifellos bis zu einem gewissen Grade gelungen, eine größere Zahl von Bakterien aus Torfstreu zu kultivieren, als dies bei bloßer Verwendung der gebräuchlichen Nährböden der Fall gewesen wäre.

Es muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, zu entscheiden, ob noch andere, von uns nicht berücksichtigte Nährböden sich zur Kultivierung der Mikroorganismen des Torfes besser eignen.

Im Frühjahr und Sommer 1912 bezogen wir aus den In- und Auslande 25 verschiedene Torfstreuproben, die wir meistens sofort nach ihrer Ankunft im Laboratorium bakteriologisch prüften.

Die Untersuchung geschah, kurz skizziert, auf folgende Art und Weise:

5 g der gut durchgemischten Torfstreu wurden im ausgeflammtten Porzellantiegel mit 500 ccm sterilem Wasser gut zerrieben, wobei sich die Vorsichtsmaßregel sehr bewährte, daß vorerst nur wenig Wasser behufs guten Zerreibens zugesetzt werden soll und dann später die Hauptmenge der Flüssigkeit folgen darf. Von dieser Emulsion wurden in Dezimal gehaltenen Abstufungen angelegte Verdünnungen hergestellt und den zur Verwendung kommenden, oben genannten Nährböden einverleibt. Die Gelatineplatten wurden, wie gewohnt, bei 18—20° C, die Agarplatten bei 30° C und die hohen Schichtkulturen bei 37° C aufgestellt.

Der Kürze halber haben wir die bei der Untersuchung der Torfstreuproben erhaltenen Resultate in Tabellenform zusammengestellt und geben zunächst in der nachstehenden Tabelle eine Übersicht über die Art und die Herkunft, bzw. den Bezugsort der einzelnen untersuchten Proben:

Nummer der Probe	Art der Probe	Herkunft bzw. Bezugsort
1	Hochmoortorf	Holland
2	Hochmoortorf	Landw. Schule Plantahof bei Landquart, Kt. Graubünden
3	Hochmoortorf	Kappel a. Albis, Kt. Zürich
4	Hochmoortorf	Kappel a. Albis, Kt. Zürich
5	Hochmoortorf	(Holländ. Herkunft) Aifeltrangen, Kt. Thurgau
6	Hochmoortorf	Einsiedeln, Kt. Schwyz
7	Hochmoortorf	Einsiedeln, Kt. Schwyz
8	Hochmoortorf	Greng b. Murten
9	Hochmoortorf	Oberriet, Kt. St. Gallen
10	Flachmoortorf	Oberriet, Kt. St. Gallen
11	Flachmoortorf	Wauwil, Kt. Luzern
12	Flachmoortorf	Wauwil, Kt. Luzern
13	Flachmoortorf	Wauwil, Kt. Luzern.
14	Flachmoortorf	Wauwil, Kt. Luzern
15	Hochmoortorf	Hameln i. Hannover
16	Hochmoortorf	Magdeburg
17	Hochmoortorf	Freiberg i. Sachsen
18	Hochmoortorf	Hamburg
19	Hochmoortorf	Hamburg
20	Hochmoortorf	Stückhausen i. Oldenburg
21	Hochmoortorf	Berlin
22	Hochmoortorf	Jorksdorf b. Königsberg, Ostpreußen
23	Hochmoortorf	Jorksdorf b. Königsberg, Ostpreußen
24	Hochmoortorf	Platendorf b. Hannover
25	Hochmoortorf	Platendorf b. Hannover

Nun folgt die Zusammenstellung der Keimzahlen sämtlicher Torfstreu-  
proben (s. p. 156).

#### Besprechung der Resultate der Keimzahl-Tabelle.

In seinem Buche über die Bakteriologie in der Milchwirtschaft<sup>1)</sup> macht  
v. F r e u d e n r e i c h (33) Angaben über den Keimgehalt von Torf und  
Stroh, sowie über den Einfluß, den diese Streumaterialien bei ihrer Verwen-  
dung auf den Keimgehalt der Milch auszuüben vermögen. Diese, von B a c k -  
h a u s gefundenen und von v. F r e u d e n r e i c h zitierten Zahlen lauten:

$$\text{Streu pro g} \left\{ \begin{array}{ll} \text{Torf} \dots\dots\dots & 2\,000\,000 \text{ Keime} \\ \text{gutes Stroh} \dots\dots & 7\,500\,000 \text{ „} \\ \text{schlechtes Stroh} \dots & 10\,000\,000 \text{ „} \end{array} \right.$$

$$\text{Einfluß der Streu} \left\{ \begin{array}{ll} \text{in 1 ccm Milch bei Verwendung von Torfstreu} & 3\,500 \text{ Keime} \\ \text{„ 1 ccm „ „ „ „ „ „ Strohstreu} & 7\,330 \text{ „} \end{array} \right.$$

Die Keimarmut des Torfes äußerte sich mithin auch in einem entsprechend  
geringeren Keimgehalte der Milch bei Verwendung dieses Streumaterials.  
B a c k h a u s und C r o n h e i m (4) fanden in Torfstreu pro g 2—3,5 Mil-  
lionen Keime.

Die niedrigste, bei unseren Untersuchungen eruierte Keimzahl betrug  
bei Probe 6 63 000 Keime im g Torfstreu, die höchste Ziffer erreichte Probe  
13 mit 22½ Millionen Keimen in der gleichen Gewichtsmenge. Der Durch-  
schnitt aller Proben erreichte 2,77 Millionen Keime pro g. Von allen in unserer

<sup>1)</sup> 3. Auflage, Jena (Fischer) 1906.

**Gesamt-  
Keimzahl<sup>1)</sup>**

No.	Auf den Torf-Gelatine- platten	Auf den Gew. Gelatine- platten	Auf den Molken- Gelatine- platten	Auf den Torf-Agar- platten	Auf den Traubenzucker- Agarplatten	In den Torf-Agar- hohen Schicht- kulturen	In den Milchzucker- Agar hohen Schichtkulturen	Gesamt- Keimzahl <sup>1)</sup>
1	44 000	68 000	82 000	121 000	50 000	—	17 000	196 000
2	—	22 000	24 000	21 000	14 000	—	5 000	64 000
3	20 000	16 000	—	4 200 000	2 000 000	—	170 000	4 360 000
4	48 000	—	5 000	64 000	54 000	3 000	20 000	130 000
5	32 000	42 000	—	311 000	50 000	—	5 000	366 000
6	13 000	10 000	9 000	25 000	31 000	—	2 000	63 000
7	150 000	120 000	50 000	145 000	90 000	—	15 000	355 000
8	240 000	340 000	450 000	690 000	450 000	—	150 000	920 000
9	150 000	500 000	540 000	1 200 000	850 000	4 000	120 000	1 590 000
10	10 000	8 000	12 000	1 250 000	24 000	—	22 000	1 287 000
11	5 000	4 500	3 600	46 000	6 000	—	40 000	88 200
12	80 000	2 000 000	2 000 000	2 700 000	240 000	20 000	1 600 000	5 900 000
13	6 800 000	8 700 000	6 300 000	15 000 000	2 400 000	3 400	5 000 000	22 500 000
14	—	450 000	—	15 300 000	560 000	—	3 100 000	16 760 000
15	46 000	56 000	14 000	47 000	105 000	25 000	400 000	514 000
16	25 000	35 000	45 000	47 000	46 000	5 000	6 000	74 000
17	380 000	370 000	250 000	320 000	380 000	3 000	—	430 000
18	29 000	42 000	14 000	43 000	27 000	—	—	65 000
19	1 400 000	1 200 000	1 450 000	2 700 000	1 600 000	—	1 800	3 940 000
20	48 000	200 000	34 000	130 000	195 000	—	800 000	282 000
21	60 000	43 000	38 000	108 000	83 000	—	45 000	198 000
22	4 500 000	110 000	170 000	2 800 000	150 000	20 000	2 300 000	7 640 000
23	120 000	160 000	42 000	77 000	17 000	—	120 000	303 000
24	41 000	27 000	14 000	62 000	55 000	—	72 000	165 000
25	490 000	200 000	80 000	400 000	390 000	—	420 000	1 163 000

<sup>1)</sup> Die Gesamtheit wurde, wie wir früher schon bemerken, dadurch gefunden, daß wir die Maximalzahlen, in welchen die einzelnen Bakterienarten auf den verschiedenen Nährböden nachweisbar waren, addierten.

Arbeit berücksichtigten Streumaterialien weist die Torfstreu weitaus am wenigsten Mikroorganismen auf. Die Erklärung dafür liegt, wie wir einleitend schon hervorgehoben haben und welche Ansicht andere Forscher teilen, in der sauren Reaktion des Moorbodens und damit auch der gewonnenen Torfstreu. Wenn Ritter (73) hervorhebt, daß Hochmoor keimarm, Niedermoor keimreich sei, so können wir dem insofern beipflichten, als unsere 2 keimreichsten Torfstreuproben No. 13 und 14 mit 22,5 und 16,7 Millionen Keimen im g, ebenfalls vom Niedermoor stammten.

Der durchschnittliche Keimgehalt der von uns untersuchten 20 Hochmoorstreuproben betrug 1 138 900 pro g, bei den geprüften 5 Flachmoorstreuproben dagegen 9 307 040 Keime pro g; es waren mithin die Flachmoorstreuproben rund 8 mal so reich an Mikroorganismen wie die Hochmoorstreuproben, wobei wir uns aber nicht verhehlen wollen, daß die Zahl der geprüften Flachmoorstreuproben eine zu bescheidene ist und dem Zufall zu reichlich Spielraum bietet, als daß nach dieser Richtung bindende Schlußfolgerungen ohne Vorbehalt zulässig wären.

Besprechung der Resultate der Keimarten-Tabelle (siehe p. 158 und 159).

Vergleichende bakteriologische Untersuchungen von gewöhnlicher Ackererde und von Moorboden zeigen, daß, trotz der Verschiedenartigkeit beider Bodentypen, hinsichtlich der sie bewohnenden Bakterienarten manche Übereinstimmung zu erkennen ist. Einige Angaben aus der Literatur mögen dies erläutern. So erwähnt Hohl (43), daß unsere Kulturböden zeitweise verhältnismäßig sehr reich an *Bac. mycoides* und *Bact. fluorescens liquefaciens* seien. Gottheil (35) fand in Bodenproben *Bac. ellenbachensis*, *Bac. asterosporus*, *Bac. tumescens*, *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides* und andere Arten. Houston (46) hat neben *Bac. mycoides* sehr häufig Aktinomyceten im Boden angetroffen, und betrachtet sie als charakteristisch für diesen Standort. *Streptothrix alba* und *chromogena* wurden von Beijerinck (9) nicht nur in Gartenerde gefunden, sondern sehr verbreitet an Pflanzenwurzeln, wo sie als Saprophyten die oberflächlichen, toten Zellschichten bewohnen. Viele der in den zitierten Arbeiten erwähnten Mikroben finden sich auch in Torfböden. Jeder, der sich mit der Mikroflora unserer Garten-, Acker-, Wiesen-, Weinberg- und Waldböden beschäftigte, macht die Erfahrung, daß die meisten der in der tabellarischen Übersicht aufgeführten Bakterienarten gelegentlich in größerer oder kleinerer Menge in den genannten Bodentypen angetroffen werden können. Über zahlreiches Vorkommen von Sproßpilzen in Hochmoorböden berichtet Fischer (30), während Ramann (71) und seine Mitarbeiter hervorheben, daß Hochmoorböden mit saurer Reaktion namentlich viel Mycelpilze, die in der Quantität die Bakterienmenge um ein Vielfaches übertreffen können, nachweisen lassen. Die ausführlichsten Angaben über die in Moorboden vorkommenden Keimarten finden wir in der Arbeit von Ritter (73), wo auch der Unterschied zwischen den Niedermoor- und Hochmoororganismen gebührend gewürdigt wird. Nach diesem Autor enthält Moorboden Kokken, Bakterien und Bazillen, in beiden Moorarten Aktinomyceten, seltener Sproßpilze, hingegen wieder sehr häufig Mycelpilze in verschiedenen Arten und noch andere, für uns weniger interessante Organismen. Über die Zusammensetzung des Organismenbestandes von Hoch- und Niedermoor schreibt Ritter: „In Hochmoore entfällt nicht immer der Hauptanteil des Organismenbestandes auf die Bakterien. Durch Um-

## Zusammenstellung der Keimarte

No. der Torfstreuprobe	Kokken	Bact. fluorescens	Bact. putidum	Bact. punctatum	Gelber Säurebildner	Kurzstäbchen a	Kurzstäbchen b	Kurzstäbchen c	Bact. aërogenes	Bact. acidi lactici	Bact. coli	Coliähnliche Bodenbakt.	Langstäbchen a
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—	—
2	28	—	10	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	2	—	—	—	—	—	5	—	—	—	2	—	—
5	22	—	—	—	—	—	—	—	—	33	2	—	—
6	3	—	—	5	—	3	—	—	—	—	6	—	—
7	6	3	—	—	—	3	—	—	—	3	5	—	5
8	9	—	—	—	—	—	5	—	—	—	3	—	—
9	3	3	—	—	4	—	—	—	29	9	25	4	—
10	26	—	—	—	—	—	11	—	—	25	16	10	—
11	7	—	—	—	—	6	—	—	9	—	—	—	—
12	—	—	10	24	—	—	2	—	—	14	12	—	—
13	29	—	12	2	—	—	—	1	8	15	2	—	2
14	10	—	—	—	—	—	—	—	57	5	5	—	—
15	58	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
16	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—
21	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	—
23	14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	—	—
24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	29	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

stände kann es dahin kommen, daß die Schimmel- und höheren Fadenpilze dominieren. Von den Bakterien überwiegen aber fast immer die Stäbchen, obschon Kokken durchaus nicht selten angetroffen werden. Sehr häufig begegnen wir Sporen; besonders jungfräuliche, unbestellte Torfe scheinen damit reich gesegnet. Es ließ sich keine bestimmte Gesetzmäßigkeit ermitteln derart, daß nur ganz bestimmte Formen im Moostorfe sich vorfinden: Im Gegenteil unterscheiden sich in verschiedenen Hochmooren auch die nur in geringer Zahl vorhandenen Keime schon bezüglich ihres Habitus im Mikroskop und hinsichtlich des Wachstums, der Größe, der Form usw. ihrer Kolonien derart oftmals, daß ein größerer Artenreichtum der überhaupt auf Hochmoorboden lebenden Bakterien nicht verkannt werden kann, selbst wenn der Artenbestand eines einzigen Moores bisweilen nur recht mäßig groß erscheinen mag.“ „Im Niedermoor finden wir vielfach abweichende Verhältnisse vor. Selbst wenn ein solches von der Kultur noch völlig unberührt blieb, liefert es doch stets höhere Bakterien- als Schimmelpilzzahlen, was mit dem natürlichen höhern Kalkgehalte in ursächlichem Zusammenhang in erster Linie gebracht werden muß.“

Daß sich diese für Moorboden charakteristischen mikrofloristischen Verhältnisse in der Torfstreu teilweise widerspiegeln, zeigen unsere Untersuchungen, aus deren Resultaten wir vorerst eine Zusammenstellung der

## sämtlicher Torfstreuproben.

Langstäbchen b	Bac. megatherium	Bac. mesentericus	Bac. subtilis	Bac. mycoides	Bac. tumescens	Bac. oxalaticus	Bac. putrificus	Unbekannter Sporenbildner	Sarcinen	Aktinomyceeten	Sproßpilze	Mycelpilze	Total
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
—	3	—	—	1	—	—	—	—	—	26	—	56	100
—	23	—	—	16	—	—	8	10	—	—	—	—	100
—	2	—	—	2	—	—	—	—	—	55	—	41	100
—	5	9	—	—	—	11	—	—	—	35	1	30	100
—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	32	—	9	100
4	10	20	—	13	—	—	—	—	—	—	6	30	100
—	—	1	—	—	—	—	—	5	6	20	37	6	100
2	—	—	6	—	—	4	4	—	2	24	—	41	100
—	—	—	—	—	—	—	5	—	—	4	4	10	100
—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	9	—	—	100
—	14	12	—	1	—	3	34	—	—	11	—	3	100
—	—	—	—	—	—	—	24	—	—	14	—	—	100
—	—	—	—	—	—	2	8	—	—	13	—	6	100
—	—	—	—	—	—	—	4	—	—	17	—	2	100
—	—	—	—	—	—	—	20	—	1	8	2	10	100
4	13	3	2	—	—	2	8	—	—	23	—	40	100
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	7	86	100
—	2	—	—	—	—	—	96	—	—	2	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	19	—	—	38	—	43	100
—	56	—	—	—	4	2	16	—	—	4	—	17	100
4	4	16	3	—	—	—	23	—	—	10	2	38	100
—	—	—	—	—	—	—	30	—	—	—	2	59	100
—	4	3	—	—	—	—	20	4	—	2	—	46	100
—	24	3	—	—	—	—	44	—	—	4	—	25	100
—	1	—	—	—	—	—	10	7	—	—	33	20	100

Keimarten, geordnet nach der Häufigkeit ihres Vorkommens, wiedergeben wollen:

In den von uns untersuchten 25 Torfstreuproben trafen wir:

1. Mycelpilze . . . . . } 21-mal
- Aktinomyceeten . . . . . }
2. *Bacillus putrificus* Bienstock . . . . . 18-mal
3. Kokken . . . . . 17-mal
4. *Bacillus megatherium* De Bary . . . . . 14-mal
5. *Bacterium coli* (Escherich) L. et N. . . . . 13-mal
6. Sproßpilze . . . . . 9-mal
7. *Bacillus mesentericus* (Flügge) L. et N. . . . . 8-mal
8. *Bacterium acidilactici* Hueppe . . . . . 7-mal
9. *Bacillus oxalaticus* Zopf . . . . . 6-mal
10. Kurzstäbchen b, Näheres siehe unten . . . . . } je 5-mal
- Bacillus mycoides* Flügge . . . . . }
11. *Bacterium punctatum* (Zimm.) L. et N. . . . . } je 4-mal
- Kurzstäbchen a, Näheres siehe unten . . . . . }
- Bacterium aërogenes* (Escherich) L. et N. . . . . }
- Langstäbchen b, Näheres siehe unten . . . . . }
- Unbekannter Sporenbildner . . . . . }
12. *Bacterium putidum* (Flügge) L. et N. . . . . } je 3-mal
- Langstäbchen a, Näheres siehe unten . . . . . }
- Bacillus subtilis* Cohn . . . . . }
- Sarcinen . . . . . }

- |  |            |
|--|------------|
| 13. <i>Bacterium fluorescens</i> (Flügge) L. et N. . . . . | } je 2-mal |
| <i>Bact. coli</i> -ähnliche Bodenbakterien . . . . .       |            |
| 14. Gelber Säurebildner Levy . . . . .                     | } je 1-mal |
| Kurzstäbchen c, Näheres siehe unten . . . . .              |            |
| <i>Bacillus tumescens</i> Zopf . . . . .                   |            |

Trotz unserem Versuche, durch die Anwendung von Spezialnährböden, die in Torfstreu, speziell in der Hochmoortorfstreu reichlich vorhandenen Mycelpilze beim Kultivieren möglichst zurückzudrängen, sind sie dennoch in stattlicher Zahl auf den Platten gewachsen. Schon Ritter hat auf das zeitweise Vorherrschen der Mycelpilze gegenüber den Bakterien im Hochmoortorfe hingewiesen, und wir können ein Gleiches auch für die aus dem Hochmoortorf gewonnene Torfstreu bestätigen. Daß gegenüber dem Flachmoortorf resp. der daraus gewonnenen Torfstreu in dieser Beziehung ein Unterschied besteht, dokumentieren unsere Untersuchungen ebenfalls deutlich, begegnen wir doch in den Torfstreuproben No. 10—14 (Flachmoortorf) entweder gar keinen, oder dann nur geringen Mengen von Mycelpilzen. Die Aktinomyцeten scheinen ihren natürlichen Standort im Boden, speziell im Moorboden zu haben, denn die Zahl und der Artenreichtum dieser Lebewesen in der Torfstreu war außerordentlich groß. *Actinomyces chromogenes*, *albus*, *violaceus*, *citreus* nebst anderen, deren Artzugehörigkeit wir nicht näher studierten, waren die Vertreter dieser Organismengruppe. Die im Torfe vielfach unter Luftabschluß sich abspielenden Zersetzungsprozesse pflanzlicher und tierischer Substanzen erfolgen unter Beteiligung anaërober Fäulnisbakterien. Solche anaërobe Fäulnisbakterien, speziell den *Bacillus putrificus* Bienst., trafen wir, wie die Anwendung von Pasteurisierungstemperaturen ergab, sowohl als Stäbchen, wie als Dauerformen, Sporen, öfters in Mengen, die ein Viertel und mehr aller Keime einer Probe ausmachten. Obwohl die Kokken nicht als charakteristische Torfmikroben anzusehen sind, begegneten wir ihnen nicht selten in der Streu, was seinen Grund in einer nachträglichen bei der Aufbewahrung des Torfes erfolgten Luftinfektion haben dürfte. Typisch für Torfstreu ist hingegen die Anwesenheit zahlreicher Bazillen (sporenbildender Stäbchen), vorwiegend des *Bac. megatherium*, wobei wir die Beobachtung machen konnten, daß diejenigen Streuproben, die diesen Organismus beherbergten, meistens auch Träger anderer Bazillenarten, wie *Bac. mesentericus*, *Bac. mycoides*, *Bac. oxalaticus*, *Bac. tumescens*, *Bac. subtilis* usw., waren. Für die genannten, mehr oder weniger luftbedürftigen Sporenbildner sind annähernd die gleichen Lebensbedingungen notwendig, weshalb ihr gemeinsames Auftreten erklärlich ist.

Das an der Zersetzung von Pflanzensubstanzen regen Anteil nehmende *Bact. coli*, sowie coliähnliche Bodenbakterien, sind häufige Torfstreubewohner. Ihre nächsten Verwandten, das *Bact. aërogenes* und das *Bact. acidilactici*, treten vorzugsweise in der dem Flachmoore entstammenden Streu auf, wobei als bemerkenswerte Beobachtung das stets gut entwickelte Gasproduktionsvermögen dieser Mikroben hervorgehoben werden muß. Aus der Untersuchung des Gasgemisches, wie es von solchen aus der Torfstreu isolierten *Bact. acidilactici*-Stämmen im Gärkölbchen aus Traubenzuckerbouillon produziert wurde, können wir den Schluß ziehen, daß diese Stämme der Gruppe des *Bact. coli* näher stehen, als dem *Bact. aërogenes*.



Sproßpilze fanden wir nur in 2 Proben (No. 7 und 25) in beachtenswerter Menge.

Es erübrigt uns noch, kurz auf die Besprechung einzelner Lang- und Kurzstäbchenarten einzugehen, die wir aus einigen der untersuchten Torfstreu-proben isolieren konnten. Unter der Bezeichnung Kurzstäbchen a rubrizierten wir ein an gewisse Milchsäurebakterien erinnerndes Stäbchen, das, in typischen Involutionsformen vorkommend, nur schwach Gas und Säure in zuckerhaltigen Nährböden zu produzieren vermochte. Kurzstäbchen b zeigte auf den Platten nur kümmerliches Wachstum; im mikroskopischen Bilde war es beinahe kokkenförmig. In die Gruppe der Fluoreszenten gehörend schien uns Kurzstäbchen c, das wir aber, gleich den andern Mikroorganismen, nicht weiter verfolgten.

Langstäbchen a hatte nach Aussehen und Wuchs der Kolonien, wie in der Form der Stäbchen, große Ähnlichkeit mit *Bac. mesentericus*, jedoch gelang es uns nicht, Sporen aufzufinden. Auch Langstäbchen b schien in naher Verwandtschaft mit Sporenbildnern des Typus *Bac. mycoides* zu sein und trat in der Streu meistens mit solchen zusammen auf. Beide letztgenannten Arten sind uns beim Weiterzüchten bald eingegangen.

Kurz zusammenfassend, können wir die Mikroflora der von uns untersuchten 20 Proben von Hochmoortorfstreu folgendermaßen charakterisieren.:

Dominierend sind die Mycelpilze, die Aktinomyceten und die Bazillen (sporenbildenden Stäbchen); mehr in den Hintergrund treten die Nichtsporenbildner unter den Stäbchen (die Bakterien) und die Kokken.

In der Mikroflora der 5 untersuchten Proben von Flachmoortorfstreu herrschen die Aktinomyceten, die Kokken und die Bakterien (nichtsporenbildenden Stäbchen) vor, während die Mycelpilze und die sporenbildenden Stäbchen zurücktreten. Unter den Bakterien spielen die Gruppen des *Bact. coli*, des *Bact. aërogenes* und des *Bact. acidilactici* eine bedeutende Rolle.

Von den torfstreibewohnenden Spaltpilzen sind die Bazillen, speziell *Bac. putrificus*, sodann die Coli-Bakterien und ihre nächsten Verwandten als Arten, die Veranlassung zu fehlerhafter Beschaffenheit von Milch und Milchprodukten geben können, besonders hervorzuheben.

### C. Einwirkung frischer und benutzter Torfstreu auf frische und sterilisierte Milch.

#### a) Versuche mit Torfstreuprobe No. 9.

Um das Verhalten der Mikroflora von frischer und sog. benutzter Torfstreu in frischer und sterilisierter Milch näher zu studieren, machten wir mit Material aus der Hochmoor-Torstreuprobe No. 9, das relativ reich an gasbildenden Bakterien war, Versuche, die jenen, welche wir mit anderen Einstreumaterialien durchführten und die in früheren Abschnitten dieser Arbeit eingehend beschrieben wurden, vollständig analog waren.

Die Herstellung der Proben, die in Anwendung gekommenen Nährböden, die Aufbewahrungstemperaturen und die Untersuchungszeiten blieben die gleichen, wie bei den früheren Versuchen.

Die für 100 ccm Milch verwendete Impfmenge von frischer oder benutzter Streu betrug in der Serienreihe 50—54  $\frac{1}{10}$  g.

Die Zusammenstellung der Resultate erfolgte der Kürze halber in 3 Tabellen: a) Tabelle der Vorprüfungen, b) Keimzahltablette, c) Keimarten-tabelle; ihnen ließen wir dann eine eingehende Besprechung der Befunde folgen.

In Serie 50 wurde ein Gemisch von 95 g Exkr.-Emulsion 20 und 5 g der Torfstreu No. 9, als sog. benutzte Torfstreu, in 3 Portionen geteilt, zu 18° C gestellt und nach 12, 24 bzw. 48 Stunden untersucht.

Zu Beginn des Versuches enthielt 1 g dieser benutzten Torfstreu 944 000 Keime. Die Vermehrung der Keime setzte gleich zu Anfang der Gärzeit ein, war in der Zeitspanne von der 12.—24. Stunde am stärksten, um gegen Schluß des Versuches wieder an Intensität zu verlieren.

Die in Serie 50 in Anwendung gebrachte benutzte Streu wurde auch in Serie 51 verwendet, und zwar in der Weise, daß davon je  $\frac{1}{10}$  g, resp. die Mikroflora dieser Menge, in 6, je 100 ccm sterilisierte Milch enthaltende Erlenmeyer kölbchen geimpft wurde. 3 Kölbchen wurden zu 12° C, 3 zu 18° C gestellt und die Untersuchung nach 12, 24 bzw. 48 Stunden vorgenommen.

Durch das Zufügen von  $\frac{1}{10}$  g benutzter Streu zu 100 ccm steriler Milch enthielt die geimpfte Milch pro ccm 944 Keime. Aus der Keimzahltablette erschen wir, daß im Verlaufe des Versuches sowohl bei den zu 12° C, wie auch bei den zu 18° C gestellten Proben schon zu Beginn der Gärzeit eine Keimvermehrung stattfand, die sich innerhalb 2 Tagen mächtig steigerte, namentlich bei den bei höherer Temperatur gehaltenen Milchproben.

Die Vorarbeit für die Durchführung der Serie 52 bestand in der bakteriologischen Prüfung der frischen Milch 15 und der Exkr.-Emulsion 21, deren Resultate sich in den folgenden Tabellen finden. Die frische Milch 15 wurde zu je 100 ccm in Erlenmeyer kölbchen verteilt und jedes Kölbchen mit je  $\frac{1}{10}$  g einer, aus einem Gemische von 95 g Exkr.-Emulsion 21 und 5 g Torfstreu No. 9 bestehenden, benutzten Torfstreu geimpft. Die Kölbchen kamen zu 12 und 18° C und wurden nach 12, 24 und 48 Stunden untersucht.

Durch die Impfung wurden der frischen Milch, die pro ccm 22 000 Keime enthielt, weitere 1599 zugeführt, so daß die geimpfte Milch zu Beginn des Versuches 23 599 Keime im ccm barg. Sowohl bei den zu 12° C, wie bei den zu 18° C gestellten Proben war schon zu Beginn der Aufbewahrungszeit eine bescheidene Keimvermehrung zu konstatieren, der im weiteren Verlaufe der Gärung ein starkes Anschwellen der Keimzahl auf dem Fuße folgte.

Die gleiche frische Milch 15 der letzten Serie wurde auch in der Serie 53 verwendet, indem damit 4 Erlenmeyer kölbchen zu 100 ccm beschickt wurden. Je 100 ccm dieser frischen Milch impften wir mit  $\frac{1}{10}$  g Torfstreu No. 9, bzw. mit der Mikroflora dieser Menge. 2 Kölbchen stellten wir zu 12° C und 2 zu 18° C und die Untersuchung erfolgte nach 24 Stunden, bzw. nachdem eine deutliche makroskopische Veränderung der geimpften Milch zu sehen war.

Den zu Anfang im ccm Milch vorhandenen 22 000 Keimen wurden durch die Impfung weitere 1590 zugegeben, so daß sich im ccm der geimpften frischen Milch zu Beginn des Versuches 23 590 Keime fanden. In allen Proben dieser Serie war eine starke Keimvermehrung zu konstatieren.

In Serie 54 wurde an Stelle von frischer Milch sterilisierte Milch verwendet. Auf je 100 ccm Milch kam eine Impfmenge von  $\frac{1}{10}$  g Torfstreu No. 9 bzw. deren Mikroflora. Die Zahl der geimpften Kölbchen sowohl, wie die Untersuchungszeiten, waren denen der letzten Serie analog.

Tabelle der Vorprüfungen.

No. der Serie	Bezeichnung der Probe	Art der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Makroskopisches Aussehen	Säuregrad
—	—	Torfstreu No. 9	—	—	—	—
—	II	Exkr.-Emulsion 20	—	2 Std.	—	—
—	III	Frisch hergestellte sog. benutzte Torfstreu, bestehend aus 95 g Exkr.-Emulsion 20 und 5 g Torfstreu No. 9				
50	III a	Exkr.-Emulsion 20, vermengt mit Torfstreu No. 9	18°	12 Std.	—	—
	III b		18°	24 Std.	—	—
	III c		18°	48 Std.	—	—
51	IV a	Sterilisierte Milch, geimpft mit einem Gemische von Torfstreu No. 9 und Exkr.-Emulsion 20	12°	12 Std.	Unverändert	3,9
	IV b		12°	24 Std.		3,9
	IV c		12°	48 Std.		4,1
	IV d		18°	12 Std.		3,9
	IV e		18°	24 Std.		4,3
	IV f		18°	48 Std.		7,5
—	II a	Exkr.-Emulsion 21	18°	2 Std.	—	—
—	V	Frische Milch 15	18°	1 Std.	—	3,2
—	VI	Frisch hergestellte sog. benutzte Torfstreu, bestehend aus 95 g Exkr.-Emulsion 21 und 5 g Torfstreu No. 9				
52	VI a	Frische Milch 15, geimpft mit einem Gemisch von Torfstreu No. 9 und Exkr.-Emulsion 21	12°	12 Std.	Unverändert	3,2
	VI b		12°	24 Std.		3,6
	VI c		12°	48 Std.		4,8
	VI d		18°	12 Std.		3,2
	VI e		18°	24 Std.		3,7
	VI f		18°	48 Std.		12,7
—	V	Frische Milch 15	18°	1 Std.	—	3,2
53	VII a	Frische Milch 15, geimpft mit Torfstreu No. 9	12°	24 Std.	Unverändert Gallertige Gerinnung. Serumzone unter der Rahmdecke.	3,2
	VII b		12°	6 Tage		16,4
	VII c		18°	24 Std.		3,3
	VII d		18°	5 Tage		18
54	VIII a	Sterilisierte Milch, geimpft mit Torfstreu No. 9	12°	24 Std.	Unverändert Ausgeschiedenes Kasein von vielen Gasblasen durchsetzt. ½ cm breite Serumzone unter der Rahmdecke	3,6
	VIII b		12°	6 Tage		8,6
	VIII c		18°	24 Std.		3,6
	VIII d		18°	4 Tage		10,7

Die Menge der durch die Impfung in die sterile Milch gebrachten Keime betrug pro ccm Flüssigkeit 1590 Mikroorganismen. Schon nach 24 Stunden zeigte die bei 12° C aufbewahrte Probe ein schwaches Ansteigen der Keimmenge, das bei der zu 18° C gestellten Probe noch deutlicher hervortrat; im weiteren Verlaufe der Gärung wuchs die Keimzahl sehr stark an.

Die tabellarische Zusammenstellung der gefundenen Untersuchungsergebnisse gestaltet sich folgendermaßen (s. die Tabellen auf p. 163—167).

Tabelle der Keimzahlen.

No. der Serie	Bezeichnung der Probe	Auf den Gelatineplatten Keime pro g oder ccm	Auf den Agarplatten Keime pro g oder ccm	In den Milchzuckeragar hohen Schichten Keime pro g oder ccm	Gesamtkeimzahl <sup>1)</sup> pro g oder ccm
—	Torf- streu 9	1 190 000	850 000	120 000	1 590 000
—	II	580 000	710 000	80 000	910 000
—	III	—	—	—	944 000
50	III a	5 800 000	3 600 000	4 500 000	7 400 000
	III b	44 000 000	77 000 000	120 000 000	207 000 000
	III c	200 000 000	190 000 000	100 000 000	270 000 000
51	IV a	1 100	700	1 300	1 920
	IV b	8 000	5 500	15 000	21 000
	IV c	1 700 000	2 200 000	1 500 000	2 400 000
	IV d	15 000	28 000	17 000	31 000
	IV e	1 400 000	2 100 000	1 500 000	3 100 000
	IV f	420 000 000	300 000 000	150 000 000	470 000 000
—	II a	150 000	900 000	1 000 000	1 600 000
—	V	6 600	21 000	5 000	22 000
—	VI	—	—	—	1 599 500
52	VI a	61 000	68 000	22 000	91 000
	VI b	4 700 000	7 200 000	800 000	8 500 000
	VI c	390 000 000	470 000 000	170 000 000	780 000 000
	VI d	122 000	120 000	19 000	141 000
	VI e	34 000 000	36 000 000	23 000 000	67 000 000
	VI f	1 040 000 000	1 110 000 000	1 000 000 000	1 910 000 000
—	V	6 000	21 000	5 000	22 000
53	VII a	2 500 000	2 600 000	1 900 000	4 500 000
	VII b	980 000 000	1 110 000 000	650 000 000	1 210 000 000
	VII c	13 000 000	10 000 000	14 000 000	27 000 000
	VII d	1 220 000 000	1 250 000 000	830 000 000	1 800 000 000
54	VIII a	40	1 540	2 000	2 680
	VIII b	1 070 000 000	1 190 000 000	500 000 000	1 580 000 000
	VIII c	8 000	20 000	16 000	28 000
	VIII d	85 000 000	87 000 000	80 000 000	179 000 000

<sup>1)</sup> Die Gesamtkeimzahl wurde, wie wir früher schon bemerkten, dadurch gefunden, daß wir die Maximalzahlen, in welchen die einzelnen Bakterienarten auf den verschiedenen Nährböden nachweisbar waren, addierten.

Aus den Resultaten der Serie 50 können wir das Verhalten der Mikroflora eines Gemisches von Torfmull mit Kuhkot und Harn nach 12 bzw. 24 und 48 Stunden umfassender Aufbewahrung bei 18°C ansehen. Sowohl die Streu als namentlich die Exkr.-Emulsion waren anfänglich ziemlich artenreich. Durch die Aufbewahrung hat in kürzester Zeit eine Reduktion auf wenige Spezies stattgefunden. *Bact. acidilactici* tritt in erster Linie überall auf, während *Bact. coli* zweimal in nachweisbarer Menge angetroffen wurde. Beide Bakterienarten waren ursprünglich sowohl im Torfmull als in der Exkr.-Emulsion zu finden. Die Proben IIIb und IIIc enthielten bedeutende Mengen des *Bact. Güntheri*, dessen Herkunftsort wohl in der Exkr.-Emulsion zu suchen ist; doch ist es nicht ausgeschlossen, daß diese Milchsäurebakterienart sich auch im Torfmull ursprünglich in bescheidener Menge vorfand, eine Auffassung, für welche die Resultate der Serie 59 zu sprechen scheinen. Voraussichtlich entstammten dem Torfe die Keime des *Bacillus putrificus* der 12 und 24 Stunden alten Proben, ebenso die in der ganzen Serie vertretenen Kokken. Starke Entwicklungshemmung haben die Sporenbildner erfahren, während von den Aktinomycceten, Sproßpilzen und Mycelpilzen überhaupt nirgends mehr eine Spur im aufbewahrten Material gefunden wurde.

Als Ausgangsmaterialien der Serie 51 dienten eine sterilisierte Milch mit dem Säuregrade 3,8, sowie das gleiche Streu-Emulsionsgemisch der vorhergehenden Serie. Wiederum sind es das *Bact. acidilactici*, dann auch *Bact. coli*, die als dominierende Mikroorganismen auftreten und für die mehr oder weniger starke Säurezunahme der einzelnen Milchproben in erster Linie verantwortlich zu machen sind. Merkwürdigerweise gelang es weder dem *Bact. Güntheri*, noch den Kokken, sich kräftig zu entwickeln; offenbar sind sie der Konkurrenz der Bazillen, die in 5 Proben, teilweise recht zahlreich, zu finden waren, unterlegen.

Serie 52 veranschaulicht uns den Kampf der Mikroflora einer frischen Milch mit derjenigen von Torfstreu und Exkr.-Emulsion während einer längeren, im Maximum 2 Tage betragenden Aufbewahrungszeit. Von den 3 maßgebenden Mikroflora erwarb sich diejenige der frischen Milch, bedingt durch ihre quantitative Überlegenheit gegenüber den Keimen anderer Herkunft ( $\frac{1}{10}$  g Torfstreu-Exkr.-Emulsion-Gemisch auf 100 ccm Milch), unbestritten von Anfang an den Vorrang, den sie im Verlaufe des Versuches auch zu behaupten vermochte. In der frischen Milch, wie in 4 von den 6 untersuchten geimpften Proben stehen die Kokken und das *Bact. Güntheri* an erster Stelle; beide Arten waren auch in der zur Verwendung gekommenen Exkr.-Emulsion enthalten. Ein ähnliches Verhalten zeigt das *Bact. acidilactici*, das ebenfalls in 4 Milchproben auftrat und sich speziell in Probe VI f durch Gasbildung im Rahme und dem Coagulum unangenehm bemerkbar machte. In dieser Probe hatten wir die höchst gemessene Säurezunahme der Milch von 9,5°, d. h. es waren 9,5 ccm n/10 NaOH notwendig, um die in der Milch enthaltene Säuremenge zu neutralisieren. Ein merkbarer Einfluß der Mikroflora der Torfstreu auf die frische Milch ist wohl bei den Proben VI b und VI e, wo der *Bac. putrificus* eine stattliche Entwicklung erfahren hatte, wahrzunehmen.

Diese soeben erwähnte Vermutung erhielt in Serie 53, wo nur Torfstreu als Impfmaterial für die frische Milch in Betracht kam, ihre Bestätigung. Die beiden, je 24 Stunden aufbewahrten Proben dieser Serie beherbergten

Tabelle der

No. der Serie	Bezeichnung der Probe	Kokken %	Bact. herbicola aureum %	Gelber Säurebildner %	Bact. fluorescens %	Bact. putidum %	Bact. punctatum %	Bact. Güntheri %	Bact. aërogenes %
—	Torfstreu No. 9	3	—	4	3	—	—	—	29
—	II	—	—	—	—	—	—	9	—
—	III	+ <sup>1)</sup>	—	+	+	—	—	8	3
50	III a	8	—	—	—	—	—	—	—
	III b	20	—	—	—	—	—	15	—
	III c	14	—	—	—	—	—	26	—
51	IV a	4	—	—	—	—	—	—	—
	IV b	—	—	—	—	—	—	—	—
	IV c	17	—	—	—	—	—	—	—
	IV d	—	—	—	—	—	—	—	—
	IV e	—	—	—	—	—	—	—	—
	IV f	—	—	—	—	—	—	11	—
—	II a	6	—	—	—	—	—	42	—
	V	26	—	—	3	—	—	59	—
—	VI	5	—	+	+	—	—	41	2
52	VI a	60	—	—	—	—	—	21	—
	VI b	50	—	—	—	15	—	17	—
	VI c	14	—	—	—	46	3	20	—
	VI d	64	—	—	—	—	—	23	—
	VI e	48	—	—	—	19	—	11	—
	VI f	4	—	—	28	—	1	10	—
—	V	26	—	—	3	—	—	59	—
53	VII a	58	—	—	—	—	—	4	—
	VII b	15	—	—	—	16	—	69	—
	VII c	49	—	—	—	—	—	—	—
	VII d	—	—	—	—	17	2	63	—
54	VIII a	6	—	—	—	—	—	19	—
	VIII b	3	3	—	—	59	—	—	—
	VIII c	7	—	—	—	—	—	36	—
	VIII d	—	3	—	7	23	—	—	—

große Mengen des *Bac. putrificus*, welcher jedoch in den mehrtägigen Proben offenbar der durch das *Bact. Güntheri* bewirkten Säuerung der Milch weichen mußte. Da der *Bac. putrificus* von den in Probe VII d nachgewiesenen Bakterienarten die einzige gasbildende Spezies ist, so sind wir geneigt, der Tätigkeit dieses Mikroorganismus das Auftreten von Gasblasen in der Rahmdecke jener Milch zuzuschreiben.

<sup>1)</sup> + bedeutet: Vorhanden, jedoch weniger als ½ % der Gesamtkeimmenge

## Keimarten.

Bact. acidi lactici %	Bact. coli %	Bact. coli-ähnliche Bodenbakterien %	Bac. megatherium %	Bac. mesentericus %	Bac. subtilis %	Bac. mycoides %	Bac. putrificus %	Aktinomyceeten %	Sprosspilze %	Myceelpilze %	Total %
9	25	4	—	—	—	—	5	4	4	10	100
13	11	—	16	40	11	—	—	—	—	—	100
13	12	+	14	37	10	—	+	+	+	3	100
54	20	—	4	—	—	—	14	—	—	—	100
34	4	—	—	3	—	—	24	—	—	—	100
60	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
42	11	—	22	3	—	2	16	—	—	—	100
24	7	—	17	4	—	—	48	—	—	—	100
75	—	—	8	—	—	—	—	—	—	—	100
32	23	—	10	23	6	6	—	—	—	—	100
50	32	—	15	—	—	—	3	—	—	—	100
57	32	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
10	16	—	5	6	3	—	—	12	—	—	100
12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
10	16	+	4	6	3	—	+	11	+	2	100
19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
—	8	—	—	—	—	—	10	—	—	—	100
16	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	100
10	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	22	—	—	—	100
55	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	100
12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	38	—	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	51	—	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	18	—	—	—	100
22	4	2	1	—	—	—	41	2	—	3	100
—	31	—	—	4	—	—	—	—	—	—	100
21	—	—	11	—	—	—	22	—	3	—	100
—	15	—	14	5	—	2	31	—	—	—	100

Die Versuche der Serie 54 legen klar, inwiefern sterilisierte Milch den Bakterien des Torfes als Nährboden zusagt und wie sich die darin entwicklungsfähigen Keime der gegebenen Aufbewahrungstemperatur anzupassen vermochten. Ein Blick auf die Tabelle zeigt, daß der in den verschiedenen Milchproben unter den einzelnen Keimarten entbrannte Kampf ums Dasein ein überaus heftiger war.

ausmachend.

Fast alle ursprünglich in der Torfstreu vorhandenen Keime treffen wir wieder an; es kommen noch als neu hinzu: *Bact. herbicola aureum*, *Bact. putidum*, letzteres quantitativ recht stark in den Proben VIIIb und VIIIc auftretend; ferner treten uns als neue Mikroorganismen *Bact. Güntheri*, *Bacillus megatherium*, *Bac. mesentericus* und *Bac. mycoides* entgegen. Das makroskopische Aussehen der mehrtägigen Proben, mit der stark fortgeschrittenen Zersetzung der Milch, erweckte auf alle Fälle den deutlichen Eindruck, daß die sterilisierte Milch den meisten der für uns in Betracht kommenden Torfstreubakterien ein recht willkommenes Nährsubstrat gewesen ist.

#### b) Versuche mit Torfstreuprobe No. 20.

Der hohe Gehalt an sporenbildenden Stäbchen bestimmte uns, die Streuprobe No. 20 als Ausgangsmaterial für die 2. Versuchsreihe der Einwirkung von Torf auf Milch zu verwenden. Als einziges abweichendes Moment von der schon behandelten Versuchsreihe der Probe No. 9 ist die Menge des angewendeten Impfmateri als zu erwähnen, indem diesmal auf 100 ccm Milch jeweils  $\frac{1}{100}$  g Streumaterial, bzw. dessen Mikroflora, zur Impfung Verwendung fand.

Einer tabellarischen Übersicht der Untersuchungsergebnisse folgt wiederum eine zusammenhängende Besprechung der einzelnen Befunde.

Zunächst einige erläuternde Bemerkungen zu Serie 55: Eine in bekannter Weise hergestellte Exkr.-Emulsion wurde sofort nach der Herstellung bakteriologisch untersucht, davon 95 g mit 5 g Torfstreu No. 20 gemischt und diese künstlich hergestellte sog. benutzte Torfstreu in 3 Portionen in sterile Bechergläser verteilt. Alle Gläser kamen zu 18° C Aufbewahrungstemperatur; die bakteriologische Untersuchung erfolgte nach 12, 24 bzw. 48 Stunden in einer Weise, die der früher beschriebenen Arbeitsmethode vollkommen entsprach. Zu Beginn der Versuche enthielt 1 g der benutzten Streu 1 135 100 Keime. Die Keimvermehrung, die schon nach 12 Stunden Gärzeit kräftig eingesetzt hatte, steigerte sich gegen den Schluß des Versuches noch beträchtlich.

Die soeben erwähnte, frisch zubereitete, benutzte Streu verwendeten wir auch in Serie 56 zur Impfung von 6, je 100 ccm sterile Milch enthaltende Erl en m e y e r kölbchen, die in gewohnter Weise bei 12 und 18° C Aufstellung fanden und nach 12, 24 bzw. 48 Stunden untersucht wurden.

Durch die Impfmenge von  $\frac{1}{100}$  g benutzter Streu erhielt die Milch pro ccm 113 Keime zugefügt. Bei einer Aufbewahrungstemperatur von 12° C war nach 12 Stunden Gärzeit die Zahl der Keime im ccm nur bescheiden, nämlich 1160 Mikroben, und es konnte sowohl nach 24 wie nach 48 Stunden nur relativ geringes Anwachsen der Keimzahlen konstatiert werden. In den bei 18° C aufbewahrten Milchproben ging die Vermehrung bedeutend rascher vor sich.

Die Ausgangsmaterialien für Serie 57 waren die Exkr.-Emulsion 23, die Torfstreu No. 20 und die frische Milch 16, die gesondert zuerst untersucht wurden.

95 g der Exkr.-Emulsion 23 und 5 g der Torfstreu No. 20 gemischt, lieferten 100 g benutzte Torfstreu, mit der wir die frische Milch impften. Die Impfmenge betrug  $\frac{1}{100}$  g auf 100 ccm Milch. Die Zahl der Proben, wie die Untersuchungszeiten, waren denen von Serie 52 analog.



Tabelle der Vorprüfungen.

No. der Serie	Bezeichnung der Probe	Art der Probe	Aufbewahrungstemperatur	Zeit bis zur Untersuchung	Makroskopisches Aussehen	Säuregrad
—	—	Torfstreu No. 20	—	—	—	—
—	II	Exkr.-Emulsion 22	—	2 Std.	—	—
—	III	Benutzte Torfstreu, bestehend aus 95 g Exkr.-Emulsion 22 und 5 g Torfstreu No. 20				
55	III a	Exkr.-Emulsion 22 vermengt mit Torfstreu No. 20	18°	12 Std.	—	—
	III b		18°	24 Std.	—	—
	III c		18°	48 Std.	—	—
56	IV a	Sterilisierte Milch, geimpft mit einem Gemisch von Torfstreu No. 20 und Exkr.-Emulsion 22	12°	12 Std.	Unverändert	3,8
	IV b		12°	24 Std.		3,8
	IV c		12°	48 Std.		3,9
	IV d		18°	12 Std.		3,8
	IV e		18°	24 Std.	Gallertig - feinflockige Gerinnung. Rahmdecke mit Gasblasen durchsetzt. 2 mm dicke Serumzone unter dem Rahme.	3,9
	IV f		18°	48 Std.		17,1
—	II a	Exkr.-Emulsion 23	18°	2 Std.	—	—
—	V	Frische Milch 16	18°	1 Std.	—	2,8
—	VI	Benutzte Torfstreu, bestehend aus 95 g Exkr.-Emulsion 23 und 5 g Torfstreu No. 20				
57	VI a	Frische Milch 16 geimpft mit einem Gemisch von Torfstreu No. 20 und Exkr.-Emulsion 23	12°	12 Std.	Unverändert	2,8
	VI b		12°	24 Std.		3,4
	VI c		12°	48 Std.		6,9
	VI d		18°	12 Std.		3
	VI e		18°	24 Std.	Gallertig geronnen	5,1
	VI f		18°	48 Std.		17,2
—	V	Frische Milch 16	18°	1 Std.	—	2,8
58	VII a	Frische Milch 16, geimpft mit Torfstreu No. 20	12°	24 Std.	Unverändert	3,1
	VII b		12°	4 Tage		17
	VII c		18°	24 Std.	Unverändert	3,6
	VII d		18°	4 Tage		17,8
59	VIII a	Sterilisierte Milch, geimpft mit Torfstreu	12°	24 Std.	Unverändert	3,2
	VIII b		12°	6 Tage		5,6
	VIII c		18°	24 Std.	Typus Blähung. Rahm durch Gas emporgetrieben, darunter Serumzone. Kasein von Gasblasen durchsetzt	3,3
	VIII d		18°	5 Tage		17,7

Tabelle der Keimzahlen.

No. der Serie	Bezeichnung der Probe	Auf den Gelatineplatten Keime pro g oder ccm	Auf den Agarplatten Keime pro g oder ccm	In den Milchzuckeragar hohen Schichten Keime pro g oder ccm	Gesamtkeimzahl pro g oder ccm
—	Torfstreu 20	282 000	195 000	44 000	282 000
—	II	230 000	540 000	600 000	1 180 000
—	III	—	—	—	1 135 100
55	III a	63 000 000	55 000 000	25 000 000	78 000 000
	III b	610 000 000	690 000 000	220 000 000	910 000 000
	III c	660 000 000	1 520 000 000	470 000 000	2 030 000 000
56	IV a	150	300	850	1 160
	IV b	100	500	1 200	1 800
	IV c	290 000	290 000	180 000	320 000
	IV d	560	600	2 100	2 810
	IV e	840 000	620 000	620 000	1 030 000
	IV f	167 000 000	165 000 000	160 000 000	167 000 000
—	II a	74 000	88 000	31 000	159 000
—	V	390 000	430 000	200 000	750 000
—	VI	—	—	—	165 150
57	VI a	3 100 000	1 900 000	900 000	4 800 000
	VI b	96 000 000	100 000 000	40 000 000	148 000 000
	VI c	880 000 000	750 000 000	930 000 000	1 350 000 000
	VI d	67 000 000	61 000 000	25 000 000	79 000 000
	VI e	850 000 000	720 000 000	400 000 000	960 000 000
	VI f	3 800 000 000	2 600 000 000	2 000 000 000	4 000 000 000
—	V	390 000	430 000	200 000	750 000
58	VII a	68 000 000	16 000 000	10 000 000	83 000 000
	VII b	1 950 000 000	1 220 000 000	8 700 000 000	10 650 000 000
	VII c	650 000 000	390 000 000	1 100 000 000	1 770 000 000
	VII d	1 250 000 000	580 000 000	7 000 000 000	7 550 000 000
59	VIII a	420	290	310	730
	VIII b	97 000 000	117 000 000	160 000 000	177 000 000
	VIII c	2 000	1 200	1 600	3 600
	VIII d	900 000 000	870 000 000	1 500 000 000	1 900 000 000

Die frische Milch enthielt pro ccm 750 000 Keime, dazu kamen durch die Impfung pro ccm weitere 16 hinzu, wodurch die Keimzahl nach der Impfung pro ccm Milch 750 016 betrug. Die Vermehrung der Keime setzte in allen Proben sehr rasch ein und die Keimzahlen stiegen bis zum Schlusse der Versuchszeit sehr hoch an.

In Serie 58 wurden 6 Erlenmeyerkölbchen mit je 100 ccm der frischen Milch 16 gefüllt und jedem Kölbchen  $\frac{1}{100}$  g Torfstreu No. 20, bzw. die Mikroflora dieses Materials, zugefügt. Die Aufbewahrungstemperaturen waren 12 und 18° C und die Untersuchung erfolgte nach 24 Stunden, bzw. nach makroskopischer Veränderung der Flüssigkeit.

Da sich im ccm frischer Milch 750 000 Keime vorfanden und durch die Impfung weitere 28 pro ccm hinzukamen, so betrug der Keimgehalt der frisch geimpften Milch 750 028 Mikroben pro ccm. In dieser Serie konnte bei allen Proben eine starke Vermehrung der Keime konstatiert werden.

An Stelle der frischen verwendeten wir in Serie 59 sterilisierte Milch; im übrigen war die Anordnung des Versuches analog derjenigen der vorigen Serie.

Durch die Impfung erhielt die sterile Milch 28 Keime pro ccm zugefügt. Die Vermehrung der Keime war in der 12 Stunden bei 12° C aufbewahrten Probe langsamer vor sich gegangen, als bei der analogen Probe von 18° C. Ganz gewaltige Keimvermehrungen ließen sich in den mehrere Tage aufgestellten Milchproben nachweisen.

Das Ausgangsmaterial der 2. tabellarisch dargestellten Serienreihe von Versuchen bildete die mit sporenbildenden Stäbchenarten (*Bac. megatherium*, *Bac. putrificus*) reichlich versehene Torfstreu No. 20.

In den Proben der Serie 55 wurde die Torfstreu No. 20 mit einer Exkr.-Emulsion, die zumeist *Bact. Güntheri* und *Aktinomyces*, des weitern Kokken, gasbildende Milchsäurebakterien, Sporenbildner usw. enthielt, vermengt. Während sich in den 12 und 48 Stunden alten Proben die Kokken und *Bact. Güntheri* in nicht allzu großer Mengendifferenz gegenüberstanden, hatte in der 24 Stunden aufbewahrten Probe hingegen das *Bact. Güntheri* unbestritten eine sehr kräftige Vermehrung erfahren. In den Proben IIIb und IIIc entfällt fast ein Viertel aller Keime auf den fäulniserregenden *Bacillus putrificus* Bienst. Von den 14, in den Ausgangsmaterialien des Versuches konstatierten Keimarten hatten eigentlich nur die 3 letztgenannten (Kokken, *Bact. Güntheri* und *Bac. putrificus*) einen maßgebenden Einfluß auf die Mikroflora der Proben dieser Serie auszuüben vermocht, die übrigen Arten sind entweder zugrunde gegangen, oder haben sich doch nur langsam und so bescheiden vermehrt, daß ihr prozentualer Nachweis neben den überwuchernden Gruppen von Mikroorganismen nicht mehr möglich war.

Die bei 12° C aufbewahrten Proben der Serie 56 begünstigten das Wachstum der aus der Exkr.-Emulsion stammenden Kokken, des *Bact. putidum*, des *Bact. Güntheri* und des *Bac. mesentericus*, nebst *Bac. megatherium*, sowie namentlich die rasche Vermehrung des *Bac. putrificus*, was bei der 24 Stunden alten Probe in ausgesprochenem Maße zu konstatieren war. Die kräftigste Vermehrung erzielte dieser Sporenbildner in Probe IVd, wo er 74 Proz. aller Keime ausmachte. Die Mikroflora der Proben IVe und IVf wurde von den gasbildenden Milchsäurebakterien beherrscht, unter denen das *Bact. acidilactici* die Hauptrolle spielte; vermochte doch dieser Mikroorganismus nach 48 Stunden umfassender Aufbewahrung der Milch, die andern Spezies so sehr zurückzudrängen, daß er allein noch prozentual nachweisbar war. Durch intensive Säureproduktion legte das *Bact. acidilactici* die Milch dick und gleichzeitig wurde unter lebhafter Gasproduktion ein Teil des Milchzuckers zersetzt. Während der Säuregrad der ungeimpften, sterilen Milch 3,8 betrug, machte derjenige von Probe IVf dagegen 17,1 aus; wir haben somit eine Säurezunahme von 13,3° zu verzeichnen, d. h. durch die Tätigkeit der Mikroorganismen war in 20 ccm Milch so viel Säure produziert worden, daß zu ihrer Neutralisation 13,3 ccm n/10 NaOH erforderlich waren.

Viele Kokken, *Bact. acidilactici*, ja auch beträchtliche Mengen des *Bac. putrificus* und nur relativ wenige Keime des *Bact. Güntheri*

Tabelle der

No. der Serie	Bezeichnung der Probe	Kokken	Bact. putidum	Bact. punctatum	Bact. Güntheri	Bact. aërogenes	Bact. acidilactici	Bact. coli	Kurzstäbchen unbekannt
		%	%	%	%	%	%	%	%
—	Torfstreu No. 20	—	—	—	—	—	—	—	1
—	II	9	4	—	29	—	8	5	—
—	III	8	4	—	28	—	6	6	+ <sup>1)</sup>
55	III a	51	—	—	42	—	7	—	—
	III b	2	—	—	74	—	—	—	—
	III c	30	—	—	45	—	—	—	2
56	IV a	2	4	—	21	—	—	—	—
	IV b	7	21	—	—	—	—	—	—
	IV c	—	9	—	54	—	28	—	—
	IV d	3	5	—	3	—	4	9	—
	IV e	—	19	4	—	10	44	23	—
	IV f	—	—	—	—	—	100	—	—
—	II a	11	30	—	9	—	3	3	—
—	V	15	—	7	10	—	43	—	—
—	VI	10	27	—	8	—	3	3	+
57	VI a	25	—	—	48	—	17	—	—
	VI b	56	—	—	5	—	12	—	—
	VI c	—	—	—	60	—	8	—	—
	VI d	—	—	—	38	—	62	—	—
	VI e	23	3	—	69	—	5	—	—
	VI f	—	—	—	95	—	5	—	—
—	V	15	—	7	10	—	43	—	—
58	VII a	6	36	—	46	—	—	—	—
	VII b	—	1	—	17	—	—	—	—
	VII c	1	10	—	27	—	—	—	—
	VII d	—	1	—	16	—	—	—	—
59	VIII a	3	—	—	—	—	—	—	—
	VIII b	—	—	—	66	—	—	—	—
	VIII c	20	—	—	36	—	—	—	—
	VIII d	—	—	—	—	—	16	47	—

machten den Hauptbestandteil der Mikroflora der für Serie 57 benutzten frischen Milch aus; solche Milch ist von schlechter bakteriologischer Beschaffenheit. Eine naheliegende Befürchtung geht nun dahin, daß eine solche, schlecht qualifizierte Milch, mit weitem Mikroorganismen besetzt, wie dies durch das Zufügen von benutzter Torfstreu, resp. ihrer Mikroflora geschieht, bei der Aufbewahrung dem gänzlichen Verderben verfallen müsse. Daß

<sup>1)</sup> + bedeutet: Vorhanden, aber weniger als ½ % der Gesamtkeimmenge.

## Keimarten.

Langstäbchen unbekannt %	Bac. megatherium %	Bac. mesentericus %	Bac. subtilis %	Bac. tumescens %	Bac. mycoides %	Bac. oxalaticus %	Bac. putrificus %	Aktinomyceten %	Mycelpilze %	Total %
—	56	—	—	4	—	2	16	4	17	100
2	4	4	—	—	—	—	9	26	—	100
3	4	5	—	+	—	+	8	26	2	100
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	24	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	23	—	—	100
1	—	20	—	—	—	—	52	—	—	100
—	5	—	—	—	—	—	67	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	9	—	—	100
—	2	—	—	—	—	—	74	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
2	8	10	7	—	6	—	—	11	—	100
—	2	—	—	—	—	—	23	—	—	100
3	12	9	6	2	5	+	1	10	1	100
—	—	—	—	—	—	—	10	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	27	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	32	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
—	2	—	—	—	—	—	23	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	12	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	82	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	62	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	83	—	—	100
—	55	—	—	—	—	—	42	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	34	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	44	—	—	100
—	—	—	—	—	—	—	37	—	—	100

diese Befürchtung aber nicht sicher in Erfüllung zu gehen braucht, geht aus den Befunden der Serie 57 hervor.

Die bei 12° C aufbewahrten Proben enthielten zwar noch reichlich *Bact. acidilactici* und auch *Bac. putrificus* nebst Kokken (in 2 Fällen), doch vermochte das *Bact. Güntheri* sowohl in Probe VIa wie in VIc, sich kräftig zu vermehren. Deutlicher tritt uns die starke Vermehrung

ausmachend.

des *Bact. Güntheri* in den bei 18° C aufbewahrten Proben vor Augen. Nur die 12 Stunden aufgestellte Probe dieser Gruppe weist größere Mengen des *Bact. acidilactici* auf; in den andern Milchproben gewann das *Bact. Güntheri* die Oberhand, rief Säuerung hervor und verdrängte auch die Fäulnisbazillen so stark, daß sie prozentual gar nicht mehr nachweisbar waren.

Als sehr ungünstig müssen wir den Gärverlauf der Proben von Serie 58 bezeichnen. Die beiden, mehrere Tage alten Proben zeigten neben der gallertigen Gerinnung der Milch einen intensiven Fäulnisgeruch. Trotz der bedeutenden Höhe des nachweisbaren Säuregrades, der ja bekanntermaßen dem Wachstum von Fäulnisbakterien hemmend im Wege steht, war die Ausbreitung des *Bac. putrificus* eine sehr große. Da sowohl die frische Milch als die Torfstreu diesen Sporenbildner enthielt, so ist ein starkes Auftreten erklärlich. In allen Proben finden wir das vorher nirgends entdeckte *Bact. putidum* vertreten, das wohl anfänglich schon entweder in der Milch, oder in der Streu in so bescheidenen Mengen vorkam, daß sein Nachweis neben den zahlreich vorkommenden andern Arten nicht gelingen wollte.

Bei den Milchproben der Serie 59 handelte es sich um die Feststellung der Entwicklungsmöglichkeit der Torfbakterien in der sterilisierten Milch.

Der in der Torfstreu zahlreich vorhandene *Bac. megatherium* vermochte hier zum ersten Male in Probe VIIIa einigermaßen gut zu gedeihen; neben ihm finden wir nur wenige Kokken, jedoch eine stattliche Zahl von Keimen des *Bac. putrificus*, der überhaupt in allen Proben dieser Serie stark hervortritt. Das Auftreten einzelner, früher in der Torfstreu nicht in nachweisbarer Menge vorkommender Arten, wie der Kokken, des *Bact. Güntheri* (VIIIb und VIIIc) und des *Bact. acidilactici*, das die Milch der Probe VIId blähte und säuerte, ist wohl der elektiven Wirkung, welche die sterilisierte Milch auf die genannten Keime ausübte, zuzuschreiben.

#### Kurze Zusammenfassung der wichtigsten Untersuchungsergebnisse des Abschnittes:

##### c) Einwirkung von frischer und benutzter Torfstreu auf frische und sterilisierte Milch.

Anschließend an die bei den einzelnen Versuchen gemachten Besprechungen, seien die Ergebnisse der Untersuchungen dieses Abschnittes in Kürze durch nachstehende Sätze zusammengefaßt:

1. Frische Torfstreu in der Menge von  $\frac{1}{10}$  bzw.  $\frac{1}{100}$  g in 100 ccm frische Milch verbracht, vermochte bei den Aufbewahrungstemperaturen von 12 und 18° C und einer Versuchsdauer von 24 Stunden, den Gärverlauf der Milch insofern zu beeinflussen, als die aus der Torfstreu stammenden Bakterien der Gruppe des *Bac. putrificus* in der Nährflüssigkeit gute Entwicklung erfuhren, wodurch in der Milch unangenehme Duftstoffe produziert wurden. In einer 2. Versuchsreihe zeigte die Milch in sämtlichen Proben in mehr oder weniger starkem Maße besagten Fehler, wobei als Ursache wiederum das Wachstum des in beträchtlicher Menge in der Flüssigkeit vorkommenden *Bac. putrificus* anzusehen war. Da in letzterem Falle der erwähnte Sporenbildner schon in der frischen Milch sich in ansehnlicher Quantität vorfand, so dürfen wir die Schuld an den fehlerhaften Umsetzungen in der Milch nicht allein der Torfstreueinfektion zuschreiben.

Außer dem genannten Organismus waren in den 24 Stunden alten Proben an wichtigeren Arten noch Kokken, *Bact. putidum* und *Bact. Güntheri* vertreten. Letztgenannter Mikroorganismus umfaßte in 2 Fällen in den mehrere Tage alten Proben ca.  $\frac{2}{3}$  der Keime der Gesamtflora.

2. In einer mit frischer Torfstreu geimpften, sterilisierten Milch entwickelten sich bei einer Aufbewahrungstemperatur von 12 bzw. 18° C, sowie 24stündiger und mehrtägiger Gärzeit zahlreiche, aus der Torfstreu stammende Keime. Als am häufigsten auftretende Keimart ist der *Bac. putrificus* hervorzuheben, indem dieser Organismus in der Mikroflora von 8 untersuchten Milchproben 7 mal gefunden wurde. Weitere Keimarten der Torfstreu, die in der sterilisierten Milch gut gedeihen konnten, sind: *Bact. fluorescens*, *Bact. putidum*, *Bact. Güntheri*, *Bact. acidilactici*, *Bact. coli* und *Bac. megatherium*.

3. Wenn eine aus 95 g Exkrement-Emulsion und 5 g Torfstreu hergestellte, benutzte Streu in der Menge von  $\frac{1}{10}$  oder  $\frac{1}{100}$  g in 100 ccm frische Milch gebracht bzw. die Mikroflora der genannten Streumengen der Milch zugefügt wurde, so konnte der Gärverlauf in ihr nicht beeinflußt werden. In den meisten Proben behielten die sich schon in der frischen, ungeimpften Milch vorfindenden Kokken, sowie *Bact. fluorescens*, *Bact. putidum*, *Bact. Güntheri* und *Bact. acidilactici* in wechselndem Mengenverhältnisse die Oberhand. Bei einer Aufbewahrungstemperatur der Milch von 12° C wurde nach 48 Stunden namentlich das *Bact. putidum* im Wachstum stark gefördert, während eine Temperatur von 18° C bei gleicher Zeitdauer speziell dem *Bact. acidilactici* zusagte. Einzig in der zu 18° C gestellten, 24 Stunden alten Probe gelangte der, wohl durch die Streu in die Milch eingeführte *Bac. putrificus* zu kräftigerer Entwicklung.

In einer 2. Versuchsreihe entwickelten sich wiederum vorwiegend die schon in der ungeimpften frischen Milch konstatierten Keime der Kokken, des *Bact. Güntheri*, des *Bact. acidilactici* und in den bei 12° C gehaltenen Proben auch des *Bac. putrificus*.

4. Beim Einimpfen der Mikroflora von  $\frac{1}{10}$ , resp.  $\frac{1}{100}$  g benutzter Torfstreu in sterilisierte Milch entwickelten sich, je nach der Aufbewahrungstemperatur (12° C und 18° C) und der Gärzeit (12, 24 und 48 Stunden), verschiedene Keimarten mehr oder weniger kräftig; als wichtigste seien die gasbildenden Milchsäurebakterien *Bact. acidilactici* und *Bact. coli* hervorgehoben. Dieser letztgenannten, speziell bei einer Aufbewahrungstemperatur von 18° C gut wachsenden Mikrobe, waren als wichtigere Arten beigesellt das *Bact. putidum*, das *Bact. Güntheri*, sowie die Sporenbildner *Bac. megatherium*, *Bac. mesentericus* und *Bac. putrificus*.

5. Benutzte Torfstreu, bei 18° C während 12, 24 und 48 Stunden aufbewahrt, zeigte gleich zu Beginn des Versuches Keimvermehrung, die gegen Ende des Versuches beträchtlich answoll.

Die Mikroflora dieser Proben setzte sich in einem Falle vorwiegend aus Kokken, *Bact. Güntheri* und *Bac. putrificus* zusammen, während in einem andern Falle zu den genannten Keimarten noch *Bact. acidilactici* und *Bact. coli* hinzukamen.

### 7. Die Mikroflora der Exkreme-Emulsionen.

Soweit nicht schon im Texte vorausgegangener Kapitel die Mikroflora der zu unseren Versuchen benützten Exkreme-Emulsionen eine Besprechung erfahren hat, soll das Versäumte im Zusammenhange hier nachgeholt werden.

Wie wir früher erwähnten, bestanden unsere sog. Exkreme-Emulsionen aus einem Gemische von frischem Kuhkot und Harn, in dem Gewichtsverhältnisse von 7:3. Normalerweise ist frischer Harn keimfrei oder doch sehr keimarm, weshalb sich die Flora der Emulsionen, der Hauptmasse nach, aus Mikroorganismen des Kuhkotes rekrutiert.

Man könnte glauben, daß die Mikroflora des Futters allein bestimmend für die Zusammensetzung derjenigen der ausgeschiedenen Exkremente sei, eine Annahme, die schon durch die Untersuchungen von Wüthrich und v. Freudenreich (89), sowie anderer Forscher, widerlegt wurde. Ein großer Teil der Spaltpilze des Futters fällt im Magen-Darmtraktus der Tiere der Vernichtung anheim, während andere lebensfähig bleiben, daselbst mehr oder weniger günstige Existenzbedingungen treffen, sich vermehren und dann im Dünger wieder zu finden sind. Da selbst in den einzelnen Darmabschnitten die Auslese unter den Bakterien eine verschiedene ist, so stellt sich die im Darm der Tiere erfolgte Infektion des Kotes mit Keimen als ein recht verwickelter Prozeß dar. Diese Tatsache spiegelt sich deutlich in der Zusammensetzung der Mikroflora des Düngers; haben wir doch hinsichtlich Zahl wie Art der nachgewiesenen Keime außerordentlich wechselnde Resultate vorgefunden. Eine Übereinstimmung zwischen den Mikrofloren verschiedener Kotproben haben wir nur insofern, als gewisse Keimgruppen in allen Proben mit mehr oder weniger großer Regelmäßigkeit wiederkehren.

Der Keimgehalt von Kuhkot ist meistens ein überaus hoher.

Gruber (36) fand in feuchtem Kuhkote in einem g 800 000 Keime, in ausgetrocknetem Material bis zu 120 Millionen in der gleichen Gewichtsmenge. Hüttemann (47) untersuchte den Darminhalt frisch geschlachteter Kühe auf Bakterien und traf pro cem Keimmengen von 9 580 000. Hohl (43) zählte 14,75 Millionen Keime im g Kuhkot und Stoklasa (78) gibt Zahlen von 60—90 Millionen für die gleiche Kotmenge an.

Die wichtigsten, im Kuhkot auftretenden Mikroorganismen sind nach Gruber (36): *Bact. aërogenes*, *Bact. coli*, *Bac. subtilis* und *Bac. mycoides*. Genannter Autor hebt hervor, daß beim Eintrocknen des Düngers ein Zerfallen desselben in feine, pulverförmige Partikelchen eintritt, die dann als Träger von Keimen eine leichte Verbreitung und Verschleppung von Bakterien in Milch ermöglichen.

Ankersmit (1) hat bei 15 untersuchten Rindern schon im Pansen eine ausgesprochene Entwicklung von Milchsäurebakterien vorgefunden, insbesondere spielte das *Bact. Güntheri* eine wichtige Rolle. Im Mastdarm wird das *Bact. Güntheri* in der Regel in den Hintergrund gedrängt. Favre (28) zeigte, daß etwa 1,5 Proz. der Mikroorganismen des Kuhkotes mit den nach den Untersuchungen von Flügge für Kinder so verhängnisvollen, peptonisierenden Bakterien der Kuhmilch identisch sind. Severin (75) fand in frischem Miste vorwiegend Bazillen.

In den von uns untersuchten Exkremente-Emulsionen schwankte die Menge der pro g nachweisbaren Keime von 99 000—8 270 000; der durchschnittliche Keimgehalt der 23 Proben betrug 2 235 000 pro g.



## An Keimarten begegneten uns dabei:

1. Kokken	19-mal
2. <i>Bacterium acidilactici</i> Hueppe	18-mal
3. <i>B. Güntheri</i> L. et N.	} je 16-mal
<i>Bacillus mesentericus</i> (Flügge) L. et N.	
4. Aktinomycceten	13-mal
5. <i>Bacterium coli</i> (Escherich) L. et N.	} je 11-mal
<i>Bacillus megatherium</i> De Bary	
6. <i>B. subtilis</i> Cohn	} je 6-mal
<i>B. mycoides</i> Flügge	
7. <i>Bacterium fluorescens</i> (Flügge) L. et N.	5-mal
8. Langstäbchen, unbekannter Art	4-mal
9. <i>Bacterium aërogenes</i> (Escherich) L. et N.	} je 3-mal
<i>Bacillus putrificus</i> Bienstock	
Mycelpilze	
Unbekannte Arten	
10. <i>Bacterium putidum</i> (Flügge) L. et N.	2-mal
11. Kurzstäbchen, unbekannter Art	} je 1-mal
<i>Bacterium prodigiosum</i> (Ehrenberg) L. et N.	

Unter den Kokken waren es verschiedene Arten von Mikrokokken, seltener von Streptokokken, die ziemlich regelmäßig in den einzelnen Proben wiederkehrten. Sehr zahlreich haben wir die Angehörigen der *Bact. coli-aërogenes*-Gruppe, die als gefürchtete Gasbildner sich bei Verimpfung von Streu-Emulsion-Gemischen in Milch daselbst mehrmals unangenehm

## Zusammenstellung der Keimzahlen sämtlicher Exkreme-Emulsionen.

No.	Datum der Untersuchung	Auf den Gelatineplatten Keime pro g	Auf den Agarplatten Keime pro g	In den Milchzuckeragar h. Schichten Keime pro g	Gesamtkeimzahl <sup>1)</sup> pro g
1	23. August 1910	120 000	800 000	250 000	1 100 000
2	16. Mai 1911	145 000	300 000	1 000 000	1 330 000
3	16. Januar 1911	280 000	430 000	850 000	960 000
4	2. März 1910	1 000 000	3 500 000	1 900 000	3 500 000
5	9. März 1910	170 000	250 000	80 000	280 000
6	16. April 1912	250 000	3 100 000	7 000 000	8 270 000
7	19. April 1912	300 000	320 000	650 000	1 115 000
8	26. September 1911	5 700 000	2 300 000	3 000 000	5 700 000
9	5. Oktober 1911	150 000	350 000	250 000	680 000
10	16. Dezember 1911	1 300 000	1 600 000	1 300 000	2 300 000
11	8. Januar 1912	700 000	2 600 000	1 800 000	4 400 000
12	8. Juni 1911	3 000 000	4 300 000	1 500 000	7 500 000
13	14. Juni 1911	410 000	300 000	1 000 000	1 550 000
14	5. Juli 1911	240 000	1 000 000	300 000	1 300 000
15	17. Juli 1911	2 000 000	2 500 000	1 300 000	3 400 000
16	14. Juni 1909	—	2 700 000	2 000 000	2 700 000
17	9. Juli 1909	4 000	88 000	15 000	99 000
18	12. Oktober 1909	—	620 000	90 000	710 000
19	3. November 1909	430 000	600 000	400 000	670 000
20	27. Juni 1912	580 000	710 000	80 000	910 000
21	8. Juli 1912	150 000	900 000	1 000 000	1 600 000
22	13. Juli 1912	230 000	540 000	600 000	1 180 000
23	22. Juli 1912	74 000	88 000	31 000	159 000

<sup>1)</sup> Die Gesamtkeimzahl pro g wurde, wie wir schon früher ausführten, durch die Addition der auf den verschiedenen Kulturmedien in maximaler Frequenz vorkommenden verschiedenen Bakterienarten gewonnen.

## Zusammenstellung der Keimarten sämtlicher Exkremente-Emulsionen.

No. der Exkrem.- Emulsion																
Kokken																
Kurzstäbchen, nicht weiter verfolgt																
Bact. fluorescens																
Bact. putidum																
Bact. prodigiosum																
Bact. Güntheri																
Bact. aërogenes																
Bact. acidi lactici																
Bact. coli																
Langstäbchen, nicht weiter verfolgt																
Bac. megatherium																
Bac. mesentericus																
Bac. subtilis																
Bac. mycoides																
Bac. putrificus																
Aktinomycceten																
Mycelpilze																
Unbekannte Arten																
Total																

1	18	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	4	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	52	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	23	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	28	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	69	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	33	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	7	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
21	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23	11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

bemerkbar machten, getroffen. Für Molkereibetriebe bilden die genannten Bakterien, sei nun ihre Herkunft auf Einstreumaterial oder auf Dünger zurückzuführen, stets eine Gefahr, da sie bei Verschleppung in Milch leicht Betriebsstörungen hervorrufen können. Die häufig aus den Exkr.-Emulsionen isolierten Stämme von *Bact. Güntheri* zeigten niemals wesentliche Unterschiede gegenüber den aus Milch gezüchteten Vertretern dieser Art. Zum normalen Bestande der Mikroflora der Exkrementemischung gehörten verschiedene aërobe Sporenbildner, wie *Bac. megatherium*, *Bac. mycoides*, *Bac. mesentericus* und *Bac. subtilis*; anaërobe Sporenbildner waren seltener. Relativ zahlreich trafen wir Aktinomycceten. Spärlich war die Zahl der vorgefundenen Fluorescenten und Mycelpilze.

Zur Ergänzung dieser kurzen Angaben lassen wir eine Zusammenstellung der Keimzahlen und der nachgewiesenen Keimarten in sämtlichen 23 von uns untersuchten Exkremente-Emulsionen folgen. Aus diesen tabellarischen Übersichten sind noch manche interessante Einzelheiten, die wir der Kürze halber nicht anführten, ersichtlich. (Siehe p. 177 u. 178.)

### 8. Die Mikroflora der frischen Milchproben.

Die in dieser Arbeit niedergelegten Versuche betreffend Einwirkung frischer und benutzter Streumaterialien auf Milch bedingten in der Folge die bakteriologische Prüfung einer größeren Anzahl frischer Milchproben, deren Resultate wir in diesem Abschnitte zusammenhängend wiedergeben wollen.

Bakteriologischen Arbeiten über Milch und damit verbundenen Fragen begegnen wir in der Literatur in überaus reichem Maße. Um den Rahmen unserer Arbeit nicht zu überschreiten, können wir nur in aller Kürze der diesbezüglichen Forschungen gedenken.

Sehr zahlreich sind die Faktoren, die ihren Einfluß auf den Bakteriengehalt einer frischen Milch auszuüben vermögen. Eine erste Infektion der Milch mit Bakterien findet meist schon im Innern des Euters statt; nach Verlassen desselben erhält die Milch durch Unreinigkeiten am Euter, den Händen des Melkers, den Staub der Stallluft, die Melkgeschirre usw. weiteren Zuschuß an Keimen. Durch sorgfältiges Melken, durch zweckmäßige Behandlung der Milch und die Anwendung aller jener Momente, wie sie bei der aseptischen Gewinnung der Milch in der Praxis sich bewährt haben, gelingt es, eine mehr oder weniger keimarme Milch zu gewinnen und dadurch die Qualität des Sekretes in bakteriologischer Beziehung zu heben.

In Berücksichtigung des Gesagten ist es erklärlich, daß die Angaben über die Keimzahlen in der Milch außerordentliche Schwankungen aufweisen.

So fand *Burri* (15) in frischer Konsummilch pro ccm im Minimum 3650 Keime, im Maximum 85 980, im Mittel 20 600 Keime. *v. Behring* (8) hat in der Milch eines Marburger Landgutes nur 400—500 Keime im ccm getroffen, indessen *Conn* und *Esten* (17) in frischer Marktmilch aus Middletown 8000—3 000 000, im Mittel 100 000 Bakterien pro g fanden. Mit zunehmendem Alter einer Milchprobe kann der Bakteriengehalt, nach Überwindung der baktericiden Phase, sehr rasch zunehmen. Wir verzichten auf weitere Angaben in dieser Richtung, um die in der Milch vorkommenden Keimarten noch kurz zu erwähnen.

Hinsichtlich der Arten der in frischer Milch vorkommenden Mikroorganismen herrscht im allgemeinen innerhalb der bisherigen Befunde ziemliche Übereinstimmung. Beispielsweise untersuchte *Kozai* (53) während eines

halben Jahres Konsummilchproben und fand darin sehr zahlreich und weit-  
 aus vorherrschend *Bact. Güntheri*. Die gleiche Bakterienart trafen  
 bei ihren Milchuntersuchungen Backhaus und Appel (3), daneben auch  
*Bact. acidilactici*, *Bact. aërogenes*, Kokken usw. Wolff  
 (86) fand bei seinen Untersuchungen, in Nachprüfung der Resultate von  
 Conn und Esten, Mikrokokken und *Bact. Güntheri*, letztere Art  
 oft schon von Anfang an dominierend. Auch Esten (25) isolierte das „Gün-  
 theri“ aus Milch und kam bei seinen zahlreichen Untersuchungen in Nord-  
 amerika und Kanada zum Schlusse, daß vorwiegend das *Bact. Gün-  
 theri* die freiwillige Milchsäuerung bewirke, indessen die Gruppen des  
*Bact. coli* und des *Bact. aërogenes* eine untergeordnete Rolle spielen,  
 bei zahlreichem Auftreten jedoch schädigend für Milch und Molkereiprodukte  
 werden können. Über schädigende Wirkungen des in Milch vorkommenden  
*Bact. coli* berichtet Fiorentini (29), der mit Milchproben aus Mail-  
 land Meerschweinchen impfte, wobei 9 von 50 geimpften Tieren nach 15—40  
 Stunden eingingen und im Blute größere Mengen des *Bact. coli* gefun-  
 den wurden. Bergey (11) hat als gewöhnliche Säuerungsbakterien in Vor-  
 zugsmilch Staphylokokken, weniger Streptokokken, in Marktmilch Stäbchen-  
 formen, unter andern *Bact. acidilactici* Hueppe, angetroffen. Bei  
 seinen Milchuntersuchungen in Lodz begegnete Dominikowicz (19)  
 beinahe in jeder rohen Milch dem *Bact. aërogenes*. Im Juli und August  
 untersuchte Milchproben beherbergten nach Koning (49) reichlich *Bac-  
 mesentericus*, der der Milch einen bitteren Geschmack verlieh. Bar-  
 thel (6), der die Milch speziell auf das Vorkommen von Anaëroben prüfte,  
 kommt bei seinen Untersuchungen zum Schlusse, daß diese Organismen-  
 gruppe sehr spärlich in Handelsmilch zu treffen ist. „Die in normaler  
 Milch angetroffenen obligat Anaëroben stellen sich fast ohne Ausnahme  
 nur als 2 Arten dar, nämlich als Schattenfroh und Grassbergers  
 unbewegliche Buttersäurebakterie und *Bacillus putrificus* Bien-  
 stock.“

Die von uns untersuchten Milchproben stammten als Mischmilch von  
 10 Kühen stets aus dem gleichen Stalle; immer handelte es sich um Mor-  
 genmilch, die wir 2 Stunden nach dem Melken im Laboratorium bakteriolo-  
 gisch prüften.

Unter den 16 Proben fanden wir im Minimum pro ccm Milch 12 200 Keime,  
 im Maximum 2 380 000 und im Durchschnitt 591 575 Keime.

An Keimarten begegneten uns dabei:

1. Kokken . . . . .	} je 16-mal
<i>Bacterium Güntheri</i> . . . . .	
2. <i>B. acidilactici</i> . . . . .	14-mal
3. <i>B. fluorescens</i> . . . . .	6-mal
4. Kurzstäbchen, unbekannt . . . . .	5-mal
5. <i>Bacterium aërogenes</i> . . . . .	4-mal
6. <i>Bacillus mesentericus</i> . . . . .	3-mal
7. Sarcinen . . . . .	} je 2-mal
<i>Bacillus megatherium</i> De Bary . . . . .	
<i>B. putrificus</i> . . . . .	
8. Kurzstäbchen in roten Kolonien . . . . .	} je 1-mal
<i>Bacterium punctatum</i> . . . . .	
<i>B. coli</i> . . . . .	
Langstäbchen, unbekannt . . . . .	
Langstäbchen, in roten Kolonien wachsend . . . . .	
Aktinomyceten . . . . .	
Sproßpilze . . . . .	

Die Bakterienflora der einzelnen Milchproben zeigte bei der Untersuchung gewöhnlich eine große Zahl von Kokken, meistens Mikrokokken verschiedenster Art, die, auf den Nährböden in weißen oder farbigen Kolonien wachsend, bald Gelatine verflüssigten, bald keinerlei Peptonisierung zeigten.

Den Kokken an Häufigkeit des Vorkommens, sowie an Zahl annähernd gleichwertig, teilweise in letzterer Hinsicht sogar überlegen, war das *Bacterium Güntheri*. Bei der Hälfte aller Milchproben betrug der Anteil des „*Güntheri*“ an der Zusammensetzung der Mikroflora über 50 Proz. aller Keime, so daß wir diese Bakterienart zweifelsohne als wichtigste der in unseren untersuchten frischen Milchproben vorkommenden Mikroorganismenarten ansehen müssen. Ein kräftiger Bestand von „*Güntheri*“ in frischer Milch ist, in Anbetracht der nachherigen Durchführung einer normalen Säuerung der Milch, nur zu begrüßen, haben doch unsere Untersuchungen gezeigt, daß eine wirksame Ausbreitung der Milchsäurebakterien in Milch deshalb zu wünschen ist, um die aus Streu und Dünger in das Substrat eingedrungenen, schädlichen Keimarten am Wachstum zu verhindern. Andererseits dürfen wir uns nicht verhehlen, daß eine unmittelbar nach der Gewinnung schon an *Bact. Güntheri* reiche Milch hinsichtlich Aufbewahrungsmöglichkeit ungünstig beschaffen ist, ganz speziell dann, wenn die Aufbewahrungstemperatur dem *Güntheri* eine rasche Vermehrung und intensive Säurebildung ermöglicht.

Unerwünscht ist die Anwesenheit des *Bacterium acidilactici* in Milch, da es, wie des öfteren schon erwähnt wurde, als Gasbildner bei der Verarbeitung der Milch Schaden stiften kann und auch für die Güte der von ihm infizierten Milch keineswegs gleichgültig ist. Wohl in der Mehrzahl der Fälle gelangen solche Keime bei unreinlichem Melken mit Kotpartikelchen, die, wie unsere Untersuchungen der Exkremente-Emulsionen gezeigt haben, reichlich *Bact. acidilactici* enthalten, in die Milch.

Das Vorkommen von gasbildenden Milchsäurebakterien, in unserm Falle speziell von *Bact. acidilactici*, gibt uns somit einen gewissen Maßstab für die beim Melken herrschende Reinlichkeit. Der Gasbildner-Gruppe angehörend sind auch *Bact. aërogenes* und *Bact. coli* Arten, die in unseren Milchproben seltener vorkamen. Uns unbekannten Umständen hatten wir es zu verdanken, daß in einzelnen Proben Keimarten, die sonst nur spärlich oder gar nicht in frischer Milch gefunden wurden, in auffällender Menge zum Vorschein kamen. So enthielt beispielsweise Probe 2 zu 50 Proz. ein in roten Kolonien wachsendes Langstäbchen, Probe 9 unter anderm 16 Proz. *Bac. mesentericus* und in der Milch 23 fanden sich sogar Fäulnisbakterien (*Bac. putrificus*) in ansehnlicher Menge; in Milchprobe 12 spielten die „Fluorescenten“ eine hervorragende Rolle. Von vereinzelt gefundenen Keimarten wären noch zu nennen: Unbekannte Lang- und Kurzstäbchen, Sarcinen, *Bact. punctatum*, *Bac. megatherium*, Aktinomyceten und Sproßpilze.

Die nun folgenden tabellarischen Zusammenstellungen über die Keimzahlen und die Keimarten, welche wir in den untersuchten 16 Proben frischer Konsummilch antrafen, mögen als Ergänzung dieser kurzen Angaben noch auf manche interessante Einzelheit aufmerksam machen, die wir der Kürze halber nicht weiter ausführen konnten.

## Zusammenstellung der Keimarten sämtlicher frischer Milchproben.

No. der frischen Milch															
Kokken	%														
Sarcinen	%														
Kurzstäbchen, nicht weiter verfolgt	%														
Kurzstäbchen, rote Kolonien bildend	%														
Bact. fluorescens	%														
Bact. punctatum	%														
Bact. Güntheri	%														
Bact. aërogenes	%														
Bact. acidi lactici	%														
Bact. coli	%														
Langstäbchen, nicht weiter verfolgt	%														
Langstäbchen, rote Kolonien bildend	%														
Bac. megatherium	%														
Bac. mesentericus	%														
Bac. putrificus	%														
Aktinomyceten	%														
Sproßpilze	%														
Total	%														

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

69 6 7 1 1 51 47 19 29 57 8 1 14 15 3 26 15

— — — — — — — — — — — — — — — —

9 — — — — — — — — — — — — — — — —

6 — — — — — — — — — — — — — — — —

5 2 — — — — — — — — — — — — — — — —

— — — — — — — — — — — — — — — —

17 13 55 99 15 38 77 30 16 24 86 53 80 80 59 10

4 12 — — — — — — — — — — — — — — — —

5 13 12 27 15 2 21 59 13 6 3 5 12 43

— — — — — — — — — — — — — — — —

— — — — — — — — — — — — — — — —

50 — — — — — — — — — — — — — — — —

— — — — — — — — — — — — — — — —

— — — — — — — — — — — — — — — —

— — — — — — — — — — — — — — — —

— — — — — — — — — — — — — — — —

— — — — — — — — — — — — — — — —

3 — — — — — — — — — — — — — — — —

100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100

**Zusammenstellung der Keimzahlen sämtlicher frischer  
Milchproben:**

No.	Datum der Untersuchung	Auf den Gelatine- platten Keime pro ccm	Auf den Agar- platten Keime pro ccm	In den Milch- zuckeragar h. Schichten Keime pro ccm	Gesamt- keimzahl pro ccm <sup>1)</sup>
1	20. Juni 1910	770 000	820 000	200 000	1 118 000
2	16. Mai 1911	1 500 000	680 000	300 000	2 380 000
3	9. März 1910	30 000	160 000	70 000	164 000
4	17. Februar 1910	1 200 000	1 400 000	1 000 000	1 400 000
5	19. April 1912	38 000	48 000	11 000	71 000
6	5. Oktober 1911	22 000	66 000	15 000	66 000
7	8. Januar 1912	120 000	200 000	1 000 000	1 040 000
8	14. Juni 1911	24 000	100 000	36 100	121 000
9	17. Juli 1911	6 300	10 000	600	12 200
10	17. Mai 1909	71 000	47 000	13 000	79 000
11	9. Juli 1909	—	20 700	120 000	136 000
12	3. November 1909	110 000	92 000	17 000	131 000
13	19. Oktober 1909	440 000	650 000	48 000	650 000
14	12. Januar 1910	74 000	180 000	1 200 000	1 325 000
15	8. Juli 1912	6 600	21 000	5 000	22 000
16	22. Juli 1912	390 000	430 000	200 000	750 000

**Schlußsätze.**

Unter ausdrücklichem Hinweis auf die bei den einzelnen Abschnitten gemachten Besprechungen, welche die Hauptergebnisse vorliegender Arbeit in sich schließen, seien hier einige wichtig erscheinende Punkte zusammenhängend in Form von Schlußsätzen nochmals hervorgehoben.

**I. Betreffend die Untersuchungstechnik.**

a) Zur bakteriologischen Untersuchung frischer und benutzter Streumaterialien eignen sich vorteilhaft Plattenkulturen, hergestellt mittels zuckerfreier Nährböden, nämlich gewöhnliche Gelatine (Fleischwasserpepton-gelatine) und Nähragar (Fleischwasserpeptonagar), sowie hohe Schichtkulturen aus Milchzuckeragar.

b) Die Anpassung der Mikroflora der Torfstreu an spezifische chemische und physikalische Eigenschaften dieses Einstreumaterials läßt es notwendig erscheinen, zur Erlangung eines möglichst vollständigen Untersuchungsergebnisses, bei der bakteriologischen Prüfung von Torfstreu für das Anlegen und die Untersuchung von Platten- und hohen Schichtkulturen, außer den gewöhnlichen zuckerfreien und zuckerhaltigen Nährböden noch spezielle „Torfnährböden“, wie wir sie zu unseren Versuchen heranzogen, zu verwenden.

**II. Betreffend die Mikroflora frischer Einstreumaterialien.**

Die Keimzahl der in vorliegender Arbeit zur Untersuchung gelangten frischen Streumaterialien, soweit sie mit Hilfe der in Anwendung gebrachten Kulturarten und Nährmedien festgestellt werden konnte, beträgt pro g bei:

<sup>1)</sup> Die Gesamtkeimzahl pro ccm wurde, wie wir schon früher ausführten, durch die Addition der auf den verschiedenen Kulturmedien in maximaler Frequenz vorkommenden verschiedenen Bakterienarten gewonnen.

**Stroh**, im Durchschnitt von 24 Proben 115 325 000, im Maximum 600 000 000, im Minimum 3 600 000 Keime;

**Schwarzstreu**, im Durchschnitt von 23 Proben 73 586 000, im Maximum 570 000 000, im Minimum 150 200 Keime;

**Riedstreu**, im Durchschnitt von 4 Proben 22 875 000, im Maximum 49 100 000, im Minimum 13 600 000 Keime;

**Laub**, im Durchschnitt von 17 Proben 58 500 000, im Maximum 370 000 000, im Minimum 51 000 Keime;

**Sägemehl**, im Durchschnitt von 14 Proben 30 773 000, im Maximum 183 000 000, im Minimum 19,500 Keime;

**Mühlenstaub**, im Durchschnitt von 24 Proben 62 700 000, im Maximum 305 000 000, im Minimum 51 000 Keime;

**Torfstreu**, im Durchschnitt von 25 Proben 2 770 000, im Maximum 22 500 000 im Minimum 63 000 Keime und zwar: a) **Hochmoortorfstreu**, im Durchschnitt von 20 Proben 1138 900, im Maximum 7 640 000, im Minimum 63 000 Keime; b) **Flachmoortorfstreu**, im Durchschnitt von 5 Proben 9 307 040, im Maximum 22 500 000, im Minimum 88 200 Keime.

Als am keimreichsten von den untersuchten Streumaterialien erwies sich das Stroh, dann folgen mit abnehmenden Keimzahlen: Schwarzstreu, Mühlenstaub, Laub, Sägemehl, Riedstreu und an letzter Stelle die Torfstreu. Dieses Einstreumittel ist von sämtlichen geprüften Materialien weit aus das bakterienärmste, beträgt doch der pro g festgesetzte durchschnittliche Bakteriengehalt nur ungefähr den 42sten Teil desjenigen von Stroh.

An wichtigeren Keimarten fanden wir:

Auf Stroh: Sehr häufig *Bacterium herbicola aureum* Burri et Duggeli, verschiedene, nicht näher studierte Kokkenspezies, *Bacterium Güntheri* L. et N., *B. fluorescens* (Flügge) L. et N., sowie Aktinomycceten; spärlicher dagegen Angehörige der Gruppe von *Bacterium acidilactici* Hueppe, den Gelben Säurebildner Levy und das *Bacterium punctatum*; wenig Sporenbildner sowie *Bacterium putidum* und vereinzelt verschiedene andere Mikroorganismen.

Auf Schwarzstreu: Häufig *Bacterium herbicola aureum* Burri et Duggeli, verschiedene Kokkenarten, Mycelpilze, *Bacterium fluorescens* (Flügge) L. et N. und *Bacillus putrificus* Bienstock (dagegen wenig sonstige Sporenbildner); ferner in der Zahl etwas zurückstehend: Aktinomycceten, *Bacterium coli* (Escherich) L. et N., *B. acidilactici* Hueppe, diverse Kurzstäbchen, Sproßpilze und den Gelben Säurebildner Levy; nur spärlich: *Bacterium Güntheri* L. et N., *B. punctatum* (Zimm.) L. et N. und *B. putidum* (Flügge) L. et N.

Auf Riedstreu: Viele Keime der Gruppe des *Bacterium fluorescens* (Flügge) L. et N., häufig *B. acidilactici* Hueppe und *B. coli* (Escherich) L. et N. und als ständige Begleiter dieser Arten in wechselnden Mengen die gewöhnlichen, in Wasser öfters anzutreffenden Keime, die sog. Wasserbakterien.

Auf Laub: In erster Linie viele Keime der Gruppe des *Bacterium fluorescens* (Flügge) L. et N., dann verschiedene Kokkenarten, Mycelpilze, nicht näher studierte Kurz- und Langstäbchen, *Bacterium herbicola aureum* Burri et Duggeli, *B. Güntheri* L. et N.; etwas spärlicher: Aktinomycceten, Sproßpilze, die Gasbildner der *B. coli-aërogenes*-Gruppe, vereinzelt sporenbildende Stäbchenarten und andere Mikroorganismen. Charakteristisch für Laub ist das Auftreten verschiedener Lang- und Kurzstäbchen-Spezies, die keiner der uns bekannten Bakteriengruppen angehören.

In Sägemehl: Zahlreiche Kokken- und Sproßpilz-Spezies, letztere öfters als dominierende Mikroorganismen; häufig *Bacterium fluorescens* (Flügge) L. et N., seltener die gewöhnlichen Milchsäurebakterien, vorab *Bacterium coli* (Escherich) L. et N. und *B. Güntheri* L. et N., sowie Mycelpilze und *Bacillus putrificus* Bienstock, nur spärlich andere sporenbildende Stäbchenarten.

In Mühlenstaub: Vorherrschend waren *Bacterium herbicola aureum* Burri et Duggeli und *B. fluorescens* (Flügge) L. et N.; sodann Kokkenarten und in wesentlich geringeren Mengen *Bacterium Güntheri* L. et N., *B. acidilactici* Hueppe und *B. coli* (Escherich) L. et N. Als einzigen Vertreter



der Sporenbildner trafen wir den *Bacillus putrificus* Bienstock; seltener waren Aktinomyceten, Sproßpilz- und Mycelpilz-Spezies nachweisbar. Die Bakterienflora des Mühlenstaubes zeigte große Übereinstimmung mit derjenigen des Strohes, doch unterschied sie sich von letzterer in der Hauptsache durch den größeren Reichtum an gasproduzierenden Arten, speziell an *Bacterium coli* und sodann durch einen verminderten Gehalt an Aktinomyceten.

Auf Torfstreu, und zwar a) Auf Hochmoortorfstreu: Viele Mycelpilze, Aktinomyceten und sporenbildende Stäbchenarten, spärlicher waren verschiedene nicht sporenbildende Stäbchenspezies und Kokken. b) Auf Flachmoortorfstreu: Wenig Mycelpilze, häufig Aktinomyceten, verschiedene Kokkenarten und nicht sporenbildende Stäbchen, von letzteren speziell die Keime der *B. aërogenes-coli*-Gruppe; spärlicher waren aërobe Sporenbildner nachweisbar.

### III. Betreffend die Mikroflora benutzter Streu verschiedenen Alters.

Die Zahl der Mikroorganismen einer bei 18° C während 2 Tagen aufbewahrten sog. benutzten Streu erfährt in vielen Fällen in den ersten 12 Stunden der Versuchszeit eine wesentliche Keimverminderung, der erst nachträglich eine Vermehrung der Keime folgt. Letztere schreitet meistens so rasch vorwärts, daß am Schlusse der Versuchszeit (nach 48 Stunden) die im g benutzten Einstreumaterials sich vorfindende Mikroorganismenzahl über 1000 Millionen betragen kann.

Die Bakterienflora einer frisch hergestellten, benutzten Streu setzt sich anfänglich aus den ursprünglich in der Streu und den Exkrementen vorhandenen Keimarten zusammen. Bei der im Verlaufe der Aufbewahrung einsetzenden Gärung tritt sodann eine Reduktion der Artenzahl ein, die sich sowohl auf Streu- wie auf Düngerbakterien erstreckt, während gleichzeitig eine intensive Förderung einzelner Keimarten beider Ausgangsmaterialien zu konstatieren ist. Die Hauptmasse der Bakterien einer 1—2 Tage aufbewahrten sog. benutzten Streu bilden die Gasbildner: *Bacterium acidilactici* Hueppe und *Bact. coli* (Escherich) L. et N.; aber auch *Bact. Güntheri* L. et N., verschiedene Kokkenarten und *Bac. putrificus* Bienstock spielen nicht selten eine wichtige Rolle.

### IV. Betreffend die Einwirkung frischer Streu auf frische Milch.

Fehlerhafte Gärung einer frischen Milch, hervorgerufen durch Infektion mittels der Mikroflora von  $\frac{1}{10}$ , bzw.  $\frac{1}{100}$  g frischer Streu auf 100 ccm Milch, tritt gewöhnlich dann auf, wenn das Streumaterial reichlich Gasbildner der *Bact. coli*-aërogenes-Gruppe enthält und die Milch ihrerseits, zufolge Armut an *Bacterium Güntheri*, dieser Invasion nicht wirksamen Widerstand entgegensetzen kann. Eine Aufbewahrungstemperatur der infizierten Milch von 18° C ist der Ausbreitung des Gasbildners förderlicher, als eine solche von 12° C. Letztere Temperatur begünstigt mehr das Wachstum von *Bacterium fluorescens* (Flügge) L. et N., *Bact. putidum* (Flügge) L. et N. und *Bact. punctatum* (Zimm.) L. et N., alles Arten, die, mit Streu in frische Milch gelangend, unter Umständen, namentlich bei längerer Aufbewahrungszeit der Proben (5—7 Tage), vollständige Peptonisierung der Flüssigkeit hervorrufen können. Der Fall, wo ein aus Streu stammender *Bacillus putrificus* Bienst. die Ursache eines Milchfehlers war, begegnete uns zweimal; einmal gelang es selbst einer an *Bact. Güntheri* reichen Milch nicht, dem Schädling wirksam entgegen

zu treten. Von der Streu in frische Milch verschleppte Kokken-Arten vermögen sich gewöhnlich während den ersten 24 Stunden der Gärzeit zu halten, verschwinden dann aber mit zunehmendem Alter der Proben. Nur in seltenen Fällen vermehren sich die sporenbildenden Stäbchenarten der Einstreumaterialien in der frischen Milch, was seinen Grund wohl darin hat, daß diese Organismen zum Auskeimen der Sporen längere Zeit und namentlich erhöhte Temperaturen (über 18° C) benötigen; es sind deshalb im allgemeinen bei den normalen Umsetzungsprozessen in Milch von dieser Bakteriengruppe keine Schädigungen zu befürchten. Im Kampfe mit den eigentlichen Milchsäurebakterien, mit den Gasbildnern und den Fluorescenten, unterliegen in der Regel auch die Aktinomycceten, die Sproßpilze, die Mycelpilze und das *Bacterium herbicola aureum* Burri et Duggeli.

#### V. Betreffend die Einwirkung frischer Streu auf sterilisierte Milch.

Von den auf den geprüften Einstreumaterialien nachweisbaren Bakterien entwickeln sich in sterilisierter Milch in erster Linie diejenigen, denen diese Nährflüssigkeit speziell zusagt. Sowohl in den bei 12° C, wie bei 18° C aufbewahrten, mit der Mikroflora von  $\frac{1}{10}$  resp.  $\frac{1}{100}$  g frischer Streu geimpften, 100 ccm messenden Proben sterilisierter Milch, fand unter den eingebrachten Keimen im Laufe der Versuchszeit (24 Stunden und 3—10 Tage) eine Auslese einzelner Keimgruppen statt, und zwar in dem Sinne, daß die kühler gehaltenen Proben vorzugsweise *Bacterium fluorescens* (Flügge) L. et N., *Bact. putidum* (Flügge) L. et N. und *Bact. punctatum* (Zimm.) L. et N. aufwiesen, indessen die bei höherer Temperatur aufbewahrten Proben *Bacterium Güntheri* L. et N. und die Keime der *Bact. coli-aërogenes*-Gruppe im Wachstum förderten. Dabei war es keineswegs notwendig, größere Quantitäten genannter Spaltpilze mit der Streu der sterilisierten Milch zuzuführen, indem nämlich auch dann die erwähnten Verhältnisse auftreten konnten, wenn prozentual nicht nachweisbare Mengen jener Keimgruppen in der Streu vorhanden waren. Unter den sporenbildenden Stäbchenarten, die hohe Temperaturen zum Auskeimen ihrer Dauerstadien vorziehen, kann sich einzig *Bacillus putrificus* Bienstock, trotz seiner Säureempfindlichkeit, neben Milchsäurebakterien und anderen Arten hier und da erfolgreich vermehren. Besitzt das *Bacterium herbicola aureum* Burri et Duggeli in der Mikroflora eines in die sterilisierte Milch verbrachten Streumittels das Übergewicht, so gelingt es ihm in den ersten 24 Stunden der Versuchszeit, seine dominierende Stellung auch in der Milch beizubehalten; späterhin wird es meistens von anderen Arten verdrängt. Ein ähnliches Verhalten zeigen die verschiedenen Kokkenarten.

#### VI. Betreffend die Einwirkung benutzter Streu auf frische Milch.

Wir hatten bei unseren Versuchen mehrmals Gelegenheit, Fälle zu konstatieren, wo die Bakterienflora einer  $\frac{1}{10}$  oder  $\frac{1}{100}$  g betragenden Impfmenge von benutzter Streu, eingebracht in 100 ccm frische Milch, auf die Gärung in dieser Flüssigkeit einen wahrnehmbaren Einfluß ausübte. Für die Entstehung von abnormalen Gärungsvorgängen in einer frischen Milch, resp. für die Entstehung eines sog. Milchfehlers, dessen Ursache in der Verunreinigung der Milch mit benutzter Streu liegt, ist das Zusammen-

treffen verschiedener Faktoren notwendig. Die günstige oder ungünstige bakteriologische Zusammensetzung der noch nicht geimpften, frischen Milch spielt dabei die Hauptrolle. Besonders eine aseptisch gewonnene, keimarme Milch ist der Gefahr ausgesetzt, durch eine Infektion mit benutztem Streumaterial wesentliche Veränderungen zu erleiden. Auch dann, wenn diese, wie bei unsern Versuchen, nur in sehr bescheidenem Maße erfolgt, kann eine genügende Zufuhr von ungünstig wirkenden Mikroorganismen eintreten, die bei der Aufbewahrung der Milch in ihr unerwünschte Umsetzungen hervorrufen können. Gewöhnlich gelingt es einer reichlich mit *Bacterium Güntheri* L. et N. versehenen frischen Milch sich der durch die Impfung eingedrungenen Schädlinge mit Erfolg zu erwehren, indem das *B. Güntheri* durch intensive Säureproduktion andere Bakterienarten schädigt und schließlich zu verdrängen vermag. Milchproben, die schon zu Beginn des Versuches reichlich Gasbildner, wie *Bacterium acidilactici* Hueppe, *Bact. aërogenes* (Escherich) L. et N. oder *Bact. coli* (Escherich) L. et N. enthalten und dann durch die Streuimpfung noch einen weitem Zuschuß an solchen Arten erhalten, weisen gewöhnlich unerwünschte Umsetzungsvorgänge auf, namentlich wenn die Aufbewahrungstemperatur der Proben 18° C beträgt; solche Milchproben zeigen dann häufig das Bild der typischen Blähung. Umgekehrt kann die Streuimpfung einer normalen Gerinnung der Milch sogar förderlich sein, ein Fall, der dann eintritt, wenn das eingebrachte Impfmateriel reichlich Milchsäurebakterien vom Typus des *Bacterium Güntheri* L. et N. enthält. Beträgt die Aufbewahrungstemperatur einer mit Streu versetzten Milch 12° C, so kann es leicht vorkommen, daß ursprünglich in benutzter Streu oder in Milch vorkommende Angehörige der Gruppe des *Bacterium fluorescens* (Flügge) L. et N. starke Ausbreitung erfahren und der einsetzenden Gärung ihr charakteristisches Gepräge verleihen. Schädigungen der frischen Milch durch *Bacillus putrificus* Bienst. konstatierten wir in 2 Fällen; einmal lag die Ursache einzig in der eingeimpften Streu, ein anderes Mal enthielt sowohl die benutzte Streu, als auch die frische Milch schon zu Beginn des Versuches beträchtliche Mengen der genannten Mikroorganismen, die durch ihre Stoffwechselprodukte der Milch jeweils einen unangenehmen Geruch verliehen. Während Kokkenarten, aus benutzter Streu in frische Milch gebracht, dort ganz gut gedeihen, ist dies bei den sporenbildenden Stäbchenarten im allgemeinen nicht zu konstatieren; ebenso finden kein ersprießliches Fortkommen: *Bacterium herbicola aureum* Burri et Duggeli, Aktinomyceten, Sproßpilze und Mycelpilze. In einem Falle vermochten die mit benutzter Streu in die Milch verbrachten Keime von *Bacterium prodigiosum* (Ehrenberg) L. et N. nach längerer Aufbewahrung der Milchproben eine Rotfärbung der Rahmdecke hervorzurufen.

#### VII. Betreffend die Einwirkung benutzter Streu auf sterilisierte Milch.

100 ccm sterilisierte Milch, die mit der Mikroflora von  $\frac{1}{10}$ , bzw.  $\frac{1}{100}$  g benutzten Streumaterials geimpft, 2 Tage bei 18° C aufbewahrt wird, zeigt intensive Vermehrung der Mikroflora und höhere Keimzahlen, als eine entsprechend behandelte, aber bei 12° C aufbewahrte Milchprobe. Von den aus der benutzten Streu in die sterilisierte Milch eingeführten Keimarten gelangen nur wenige zur vollen Entwicklung; diese üben den entscheidenden Einfluß auf den Gärverlauf in der Milch aus. In den bei 12° C aufbewahrten

Proben gelangten, je nach dem zur Impfung verwendeten benutzten Streumaterial, die verschiedensten Keimarten zur Entwicklung. Wohl am besten vermochten sich den Bedingungen, welche in der sterilisierten Milch geboten wurden, die gewöhnlichen und die gasbildenden Milchsäurebakterien, so *Bacterium Güntheri* L. et N. und die Bakterien der *Coli-Aërogenes*-Gruppe anzupassen. Außer den genannten Mikroben trafen wir bei unsern Versuchen *Bacterium herbicola aureum* Burri et Dügge, *Bact. fluorescens* (Flügge) L. et N., *Bacillus putrificus* Bienstock, Aktinomyeten und Sproßpilze hier und da in größerer Zahl an. Die Temperatur von 18° C ist speziell der Entwicklung der Angehörigen der *Coli-Aërogenes*-Gruppe förderlich, während sich die Kokkenarten sowohl bei 12° C als bei 18° C kräftig vermehren. Nur wenn die mit der benutzten Streu in die Milch eingebrachte Menge von sporenbildenden Arten eine relativ große ist, vermögen sie sich, namentlich bei einer Aufbewahrungstemperatur von 18° C, im Konkurrenzkampfe mit andern Arten Geltung zu verschaffen.

Die vorliegende Arbeit wurde während meiner Studienzeit an der Universität Zürich und meiner nachherigen Tätigkeit als Assistent des landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratoriums der Eidgenössischen Technischen Hochschule durchgeführt. Meinem verehrten Chef und Lehrer, dem Vorstände des genannten Laboratoriums, Herrn Prof. Dr. M. Dügge, auf dessen Anregung und unter dessen Leitung die Arbeit entstanden ist, möchte ich an dieser Stelle für die mir zuteil gewordene Unterstützung, für seine wertvollen Ratschläge und sein liebenswürdiges Entgegenkommen meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Meine Freunde und Bekannten, die mir bei der Beschaffung des Untersuchungsmaterials hilfreich an die Hand gingen, möchte ich ebenfalls meines wärmsten Dankes versichern.

### Literatur.

1. Ankersmit, Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 39. p. 359.)
2. Arnoldow, A., Über die Veränderung des Roggenmehles durch das Wachstum von Schimmelpilzen. (Westnik obschtsch. gig. Bd. 43. p. 1499; Ref. Kochs Jahresber. 1907. p. 513.)
3. Backhaus und Appel, Über aseptische Milchgewinnung. (Ber. d. landw. Inst. d. Univ. Königsberg i. Pr. Bd. 5. p. 1.)
4. Backhaus und Cronheim, Ber. d. landw. Inst. d. Univ. Königsberg i. Pr. Bd. 2. 1898. p. 23; zitiert nach Löhnis, Handb. d. landw. Bakt. p. 428.
5. Backhaus, zitiert nach Löhnis, Handb. der landw. Bakt. p. 138.
6. Barthel, Chr., Obligat anaërobe Bakterien in Milch und Molkereiprodukten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 26. p. 1.)
7. Barthel, Ch., Rev. génér. du lait. T. V. p. 223; zitiert nach Löhnis, Handbuch d. landw. Bakt. p. 10.
8. v. Behring, E., Hygienische Grundsätze für die Gewinnung von Milch. (Berlin. Molkereizeitg. p. 325; Ref. Kochs Jahresber. 1907. p. 339.)
9. Beijerinck, M. W., Über Chinonbildung durch *Streptothrix chromogena* und Lebensweise dieses Mikroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 6. p. 2.)
10. Beijerinck, M. W. und Rant, A. Wundreiz, Parasitismus und Gummifluß bei den Amygdaleen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 15. 1905. p. 372.)
11. Bergey, Die bei Eiterungen vorkommenden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 15. p. 245.)
12. Bettencourt et Berges, Recherches sur le *B. coli* des vertébrés inférieurs et des céréales. (Arch. dorcal. Ist. bacteriol. Camara Postana. F. 2. Fasc. 2; Ref. Kochs Jahresber. 1908. p. 175.)

13. v. Bibra, Die Getreidearten und das Brot. 2. Aufl. Nürnberg 1861. p. 164.
14. Burri, R., Die Bakterienvegetation auf der Oberfläche normal entwickelter Pflanzen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 10. 1903. p. 756.)
15. Burri, R., Die Bakterienflora der frisch gemolkenen Milch gesunder Kühe. (Schweiz. Landw. Centralbl. Bd. 21. p. 293.)
16. Burri, R. u. Holliger, W., Zur Frage der Beteiligung gasbildender Bakterien beim Aufgehen des Sauerteiges. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. p. 99.)
17. Conn, W. and Esten, M., Qualitative analysis of bacteria in market milk. (Storrs Agric. Exp. Stat. 15. Ann. Rep. p. 63; Ref. Kochs Jahresber. Jahrg. 1904. p. 385.)
18. Dombrowsky, Hygienische Untersuchungen über Mehl und Brot. (Arch. f. Hyg. Bd. 49. p. 62.)
19. Dominikowicz, M., *Bacterium lactis aërogenes* in der Milch. (Milchzeitg. Bd. 32. p. 817.)
20. Dügge, M., Beitrag zur Kenntnis der Selbsterhitzung des Heues. (Naturw. Zeitschr. f. Land- und Forstw. Bd. 4. 1906. p. 475.)
21. Dügge, M., Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 12 und 13. p. 602 u. p. 56.)
22. Dünnenberger, C., Bakteriologisch-chemische Untersuchung über die beim Aufgehen des Brotteiges wirkenden Ursachen. (Diss.) Zürich 1888.
23. Ebermayer, E., Die gesamte Lehre der Waldstreu. Berlin 1876. p. 176.
24. Emmerling, O., Chemische und bakteriologische Untersuchung der Gärung des frischen Grases. (Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 30. p. 1869; Ref. Kochs Jahresber. 1897. p. 238.)
25. Esten, M., Milchsäurebakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 16. p. 536.)
26. Esten, M. and Mason, J., Sources of bacteria in milk. (Conn. Storrs. Stat. Bull. 51; Ref. Kochs Jahresber. 1908. p. 380.)
27. Fabricius und v. Feilitzen, Über den Gehalt an Bakterien in jungfräulichem und kultiviertem Hochmoorboden auf dem Versuchsfelde des schwedischen Moorkulturvereins bei Flahult. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 14. 1905. p. 161.)
28. Favre, Les bactéries des excréments de la vache comme source de contamination. (Wratsch. 1896. No. 40; Ref. Kochs Jahresber. 1897. p. 157.)
29. Fiorentini, A., Ricerche sperimentali sul latte di Milano fatte in rapporto all'igiene alimentare (Giorn. d. R. Soc. ital. d'Ig. p. 62; Ref. Kochs Jahresber. 1896. p. 166.)
30. Fischer, Bakteriologisch-chemische Untersuchungen. (Landw. Jahrb. Bd. 38. 1909. p. 365.)
31. Fränkel, F., Über das konstante Vorkommen eines zur Coli-Gruppe gehörigen Bacillus im Weißbrotteig. (Diss.) Würzburg 1896.
32. Fränkel und Klipstein, Versuche über das Verhalten der Cholera- und Typhusbakterien im Torfmull. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. H. 2; Ref. Hyg. Rundsch. Bd. 4. p. 549.)
33. Freudenreich, E. v., Bakteriologie der Milchwirtschaft. 3. Aufl. Jena 1906.
34. Gaertner, A., Torfmull als Desinfektionsmittel von Fäkalien nebst Bemerkungen über Kotdesinfektion im allgemeinen usw. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 18. H. 3; Ref. Hyg. Rundschau. Bd. 5. p. 39.)
35. Gottheil, O., Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. p. 430.)
36. Gruber, Th., Die Bakterienflora von Runkelrüben, Steckrüben, Karotten, von Milch während der Stallfütterung und des Weideganges einschließlich der in Streu, Gras und Kot vorkommenden Mikroorganismen und deren Mengenverhältnisse in den letzten vier Medien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22. 1909. p. 402.)
37. Hansen, E. Chr., Neue Untersuchungen über den Kreislauf der Hefearten in der Natur. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 10. p. 1.)
38. Hansen, E. Chr., Über die Brutstätten der Alkoholgärungspilze oberhalb der Erde. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 14. p. 546.)
39. Haws, F., Bemerkung über das Vorkommen von *Bacillus prodigiosus*. (Pharm. Journ. Vol. 29. p. 85; Ref. Kochs Jahresber. 1908. p. 68.)
40. Heiden, E., Lehrbuch der Düngerlehre. Bd. 2. p. 47.
41. Heinrich, R., Dünger und Düngen. Berlin 1899. p. 3.
42. Hoffmann, F., Wie groß ist die Zahl der Mikroorganismen auf dem Getreide unter verschiedenen Bedingungen. (Wochenschr. f. Brauer. p. 1153; Ref. Kochs Jahresber. 1896. p. 67.)

43. Hohl, J., Über landwirtschaftlich wichtige Bodenbakterien. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1904. p. 437.)
44. Holliger, W., Bakteriologische Untersuchungen über Mehleigärung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 9. 1902. p. 305.)
45. Hornberger, zitiert nach Löhnis, Handb. d. landw. Bakt. p. 677.
46. Houston, Mitteilungen über die chemische und bakt. Untersuchung von Bodenproben usw. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 26. 1899. p. 773.)
47. Hüttemann, W., Beiträge zur Kenntnis der Bakterienflora im normalen Darmtraktus des Rindes. (Diss. Bern 1905; Ref. Kochs Jahresber. 1905. p. 402.)
48. Koning, J., Bijdrage tot de kennis van het leven der humicole fungi en van de scheikundige processen welke by de humificatie plaats hebben. (Verhandl. kon. Akad. van Wetensch. Amsterdam 1903. 2. Sect. Deel. 9. No. 7; Ref. Kochs Jahresber. 1904. p. 97.)
49. Koning, J., Biologische und biochemische Studien über Milch. (Milchw. Centralbl. Bd. I. p. 49; Ref. Kochs Jahresber. 1905. p. 275.)
50. Koning, J., Biologische und biochemische Studien über Milch. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 18. p. 508. IV. Teil.)
51. Koning, J., Biologische und biochemische Studien über Milch. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 15. p. 475. III. Teil.)
52. König, Spieckermann, Tillmanns, Beulshausen, Kretschmer, Niemilowicz, Vogel und Fuhrmann, in Löhnis, Handb. d. landw. Bakt.
53. Kozai, Y., Beiträge zur Kenntnis der spontanen Milchgerinnung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 31. p. 337.)
54. Krawkow, zitiert nach Löhnis, Handb. d. landw. Bakt. p. 696.
55. Kühl, H., Durch Bakterien vergiftetes Korn. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22. 1909. p. 559.)
56. Laurent, E., La bactérie de la ferment panair. (Bull. Acad. Roy. de Belgique. Sér. III. 1885.)
57. Leck, vander, Aromabildende Bakterien in Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 17. p. 366.)
58. Lehmann und Neumann, Bakteriologische Diagnostik. 5. Aufl. Bd. 10. München 1912.
59. Levy, F., Hygienische Untersuchungen über Mehl und Brot. (Arch. f. Hyg. Bd. 49. p. 62.)
60. Luxwolda, W. B., Wachstum und Wirkung einiger Milchbakterien bei verschiedenen Temperaturen. (Centralblatt f. Bakt. Abt. II. Bd. 31. 1911. p. 129.)
61. Maurizio, Die Gärung des Mehleiges. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 16. 1906. p. 513.)
62. Miehe, H., Die Selbsterhitzung des Heues. Biolog. Studie. Jena 1907.
63. Molisch, zitiert nach Löhnis, Handb. d. landw. Bakt. p. 40.
64. Müller, L., Vergleichende Untersuchungen über die Milchsäurebakterien (des Typus Güntheri) verschiedenster Herkunft, nebst Beitrag zur Frage der Stellung dieser Organismen zu den typischen Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 17. 1907.)
65. Nessler-Düggeli, zitiert nach Löhnis, Handb. d. landw. Bakt. p. 677.
66. Papasotiriu, J., Untersuchungen über das Vorkommen des *Bacterium coli* in Teig, Mehl und Getreide, nebst einigen Bemerkungen über die Bedeutung des *B. coli* als Indikator für Verunreinigungen von Wasser mit Fäkalien. (Arch. f. Hyg. Bd. 41. p. 204.)
67. Perotti, R., Per l'esame bacteriologico-agrarario del terreno. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21. p. 179.)
68. Peter, A., Untersuchungen über die Eignung des sog. „Mühlenstaubes“ als Streumittel für Milchvieh. (Ber. d. landw. Winterschule Custerhof, Rheineck 1901.)
69. Pies, W., Beitrag zur Frage der Tiefkühlung der Milch. (Milchwirtsch. Centralbl. Bd. 6. 1910. p. 537.)
70. Prescott, Smith, Nixter and Gunn, The occurrence of organisms of saccatory significance on grains. (Biol. Stud. by the Pupils of W. Thompson Sedgwick, Boston, p. 208; Ref. Kochs Jahresber. 1906. p. 195.)
71. Ramann, Remelé, Schellhorn und Krause, Zeitschrift f. Forst- u. Jagdw. Bd. 31. p. 575; zitiert nach Löhnis, Handb. d. landw. Bakt. p. 517.
72. Ravenal, Hastings and Hammer, Journ. Infect. Dise. Vol. 7. 1910. zit. Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1912. p. 79.

73. Ritter, G. A., Beiträge zur Kenntnis der niederen pflanzlichen Organismen, besonders der Bakterien von Hoch- und Niedermoores, in floristischer, morphologischer und physiologischer Beziehung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 34. 1912. p. 577.)
74. Salzmänn, Chemisch-physiolog. Untersuchungen über die Lebensbedingungen usw. (Diss. Königsberg 1901. p. 63; Ref. Löhnis, Handb. d. landw. Bakt. p. 721.)
75. Severin, Die im Mist vorkommenden Bakterien und deren physiolog. Rolle bei der Zersetzung desselben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 1. 1895. p. 98.)
76. Stebler, G., Die besten Streupflanzen. Bern 1898. p. 4, 12, 14, 21 und 22.
77. Stebler, G., Die Anlage und Behandlung der Streuwiesen. Vortrag. Zürich 1892. p. 13.
78. Stoklasa. (Fühlings Landw. Zeitg. Bd. 56. 1907. p. 411; zitiert nach Löhnis, Handb. d. landw. Bakt. p. 411.)
79. Stockmann, J., Über den Einfluß sporentragender Stäbchen auf die Säurebildung in Mischungen von Mehl und Wasser. (Diss. Würzburg; Ref. Kochs Jahresber. 1905. p. 408.)
80. Thomann, J., Beitrag zur Kenntnis des fadenziehenden Brotes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 6. p. 740.)
81. Watkins, J., Die Erscheinung des Fadenziehens von Mehl und Brot. Nachweis und Verhütung dieser Krankheit. (Journ. of the Soc. of chem. Ind. Vol. 25. p. 350; Ref. Kochs Jahresber. 1906. p. 483.)
82. Weigmann, Über den gegenwärtigen Stand der bakteriologischen Forschung auf milchwirtschaftlichem Gebiete. (Milchzeitg. Bd. 25. 1896. p. 148.)
83. Weigmann, Mitteilung von Freudenreich, Milchsäurefermente und Käsebereitung. (Publiz. im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 8. 1902. p. 680.)
84. Weigmann und Wolff, Weitere bakteriologische Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis. (Milchw. Centralbl. Bd. 7. 1911. p. 529.)
85. Weigmann und Zirn, Über „seifige Milch“ und über die Herkunft der Bakterien in der Milch. (Milchzeitg. Jahrg. 22. 1893. p. 570.)
86. Wolff, A., Zur Kenntnis der Veränderungen in der Bakterienflora der frischen Milch während des sog. Inkubationsstadiums. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 20. p. 545.)
87. Wolff, A., Ursache und Wesen bitterer Milch. (Milchw. Centralbl. Bd. 5. 1909. p. 69.)
88. Wolff, E., zitiert nach Stebler, Die besten Streupflanzen. Bern 1898. p. 7.
89. Wüthrich und v. Freudenreich, Über den Einfluß der Fütterung auf den Bakteriengehalt des Kuhkotes. (Jahresber. d. Molkereischule Rütli. 1894.)
90. Zikes, H., Über Bakterienzoogloenbildung an den Wurzeln der Gerstenpflanze. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. p. 278.)

*Nachdruck verboten.*

## Organische Kohlenstoffernährung der Pflanzen.

### Parallele zwischen Pilzen und grünen Pflanzen.

Von Prof. Dr. Th. Bokorny.

Die **Kohlensäure** ist bei grünen Pflanzen die erste und wichtigste Kohlenstoff-Quelle; sie gilt als **unorganische Kohlenstoffernährung**<sup>1)</sup>.

Auf die **Luftkohlensäure** ist auch das Erträgnis unserer Felder an organischer Substanz in erster Linie zurückzuführen.

<sup>1)</sup> Der Begriff „organisch“ ist somit in der Physiologie ein anderer als in der Chemie. Denn zur organischen Chemie zählen **alle** Kohlenstoffverbindungen, die Kohlen-säure ist nicht ausgeschlossen.

Das ist seit geraumer Zeit ein Fundamentalsatz der Physiologie und Landwirtschaft geworden.

Wie weit noch die im Boden enthaltene Kohlensäure mitwirkt, ist nicht festgestellt.

Es kann ja wohl angenommen werden, daß sie mit dem Wasser in die Pflanze gelangt und dort verwendet wird.

Ob diese Mitwirkung soweit geht, daß damit die eminent vorteilhafte Wirkung guter Gartenerde ausreichend erklärt werden kann, wie in neuester Zeit behauptet wurde, möchte ich bezweifeln. Es soll nach dieser Meinung die reichliche Entwicklung von Kohlensäure durch die in der humusreichen Gartenerde massenhaft vorhandenen Mikroorganismen an der üppigen Entwicklung der Kulturpflanzen im Gartenlande schuld sein.

Experimentell ist das kaum zu beweisen.

Man müßte die Pflanzen so aufziehen, daß die Kohlensäure nur mit dem Transpirationswasser aus den Wurzeln in die Stengel und Blättern gelangen könnte, was wohl unüberwindliche Schwierigkeiten bieten dürfte.

Warum auch diese Mühe?

Die grüne Pflanze ist ja offensichtlich auf Kohlensäureaufnahme aus der atmosphärischen Luft vortrefflich eingerichtet.

Sie ist durch ihre zahlreichen flachen Blätter so an der Luft ausgebreitet und damit in so reichlicher Berührung mit derselben, daß sie alle Gase der Luft, selbst die nur 0,04 Proz. betragende Kohlensäure reichlich aufzunehmen vermag.

Hunderte von Spaltöffnungen pro qcm ermöglichen den Eintritt in das Blattinnere.

Es gebricht der Pflanze sicherlich auch in schlechter Erde nicht an Kohlensäure.

Das lehren auch die zahlreichen Pflanzen, die schon in schlechter Erde vortrefflich gedeihen.

Neben der Luftkohlensäure dürfte also die Bodenkohlensäure, welche mit dem Transpirationswasser in die Wurzeln eindringt, kaum sehr in Betracht kommen.

Mir scheint eine andere Deutung wahrscheinlicher.

Fürs erste gestattet der humöse Gartenboden wegen seiner ungemein feinen Verteilung eine sehr weitgehende Wurzel-Verzweigung und Wurzelhaarbildung, womit die Aufnahme von Wasser und Nährsalzen gesteigert und gesichert wird. Die vorhandenen Mengen von Nährsalzen und Wasser können dadurch entzogen werden.

Auch hält der humöse Boden die Nährsalze zurück und bewahrt sie vor dem Auslaugen.

Fürs zweite enthält die Gartenerde immer auch assimilierbare, organische Stoffe, deren Assimilation nicht so schwierig ist, als die der Kohlensäure. Sie ist namentlich vom Lichte nicht so abhängig, wie die Kohlensäureassimilation.

Damit kommen wir auf die organische C-Ernährung zu sprechen.

Sie ist nicht bloß bei Pilzen vorhanden, sondern auch bei grünen Pflanzen.

Für beide physiologische Gruppen hat die Forschung so mannigfaltige und merkwürdige ernährungsschemische Dinge zutage gebracht, daß es sich rentiert, einmal die Ergebnisse zusammen-



z u f a s s e n , und übersichtlich zusammenzustellen, dann auch Pilze mit grünen Pflanzen, verschiedene Pilzgruppen untereinander zu vergleichen.

Eigene Beobachtungen sollen dieser Zusammenstellung an passender Stelle eingefügt werden.

Die Anordnung des Stoffes soll nach chemischen Gesichtspunkten geschehen.

### Alkohole und Phenole.

**Methylalkohol** ( $\text{CH}_3 \cdot \text{OH}$ ).

Er ist der einfachste Alkohol, besitzt wie die Kohlensäure nur 1 C-Atom im Molekül.

Aus diesen und aus anderen Gründen knüpft sich an ihn ein besonderes ernährungsphysiologisches Interesse.

Derselbe ist für den Menschen und für viele (alle?) Tiere giftig.

Die Pflanzen können ihn vielfach als Nährstoff verwenden.

Hinsichtlich der **Bakterien** hat Verf. vor einiger Zeit (Centralbl. f. Bakt. Bd. 29. p. 179) mitgeteilt, daß Bakterien in Methylalkohollösungen wachsen.

Aus den Versuchen geht hervor, daß sogar 5 Proz. Methylalkohol noch Pilzvegetation erzeugt.

Es wurde eine Lösung von 5 Proz. Methylalkohol + 0,1 Proz. Mineralsalz hergestellt, dann mit 3 Tropfen einer stark pilzhaltigen Lösung geimpft. Nach 3 Tagen war nur etwas Salzausscheidung (Ca- und Mg-Phosphat?) zu bemerken, die Trübung setzte sich bald ab. Nach 8 Tagen war zu meinem Erstaunen doch Pilztrübung zu bemerken, ferner Haut und Bodensatz. Die Haut bestand aus Bakterien und Kristallen; der Bodensatz aus Bakterien, Hefezellen und Kristallen. Es scheint als ob sich zuerst die Hefe entwickelt hätte und daß diese dann durch Bakterien aus der Luft überwuchert wurde.

Bei Methylalkohol 10 Proz. trat keine Pilztrübung ein.

2 Proz. Methylalkohol erzeugte binnen 8 Tagen Haut und Satz; Bakterien mit Infusorien gemischt.

0,5 Proz. Methylalkohol erzeugte bei 26° binnen 24 Stunden Haut, Trübung und Satz aus Pilzen (kleine Hefenart).

0,1 Proz. Methylalkohol brachte binnen 14 Tagen große Mengen einer dickschleimigen Pilzmasse hervor (kleine Sproßhefenart).

Sogar 0,0025 Proz. Methylalkohol ernährt noch Pilze (Trübung und Pilzhaut).

Die Verdünnung 0,0025 Proz. = 1: 40 000 bei welcher der Methylalkohol noch ernährt, ist wirklich staunenswert!

Man denkt hierbei unwillkürlich an die feinsten chemischen Reaktionen.

Es läßt sich nun auch begreifen, warum manchmal in Lösungen die anscheinend gar keinen Nährstoff enthalten, nach langer Zeit Pilze und Algen auftreten. Es sind Spuren von „Verunreinigung“ da oder es fliegen solche aus der Luft an. Die Mikroorganismen wissen das auszunützen.

Bekanntlich ergibt die bakteriologische Wasseruntersuchung oft auch bei allerbestem Quell- und Brunnenwasser bis zu 50 und 100 Keime pro ccm. Sie kommen mit den vorhandenen Spuren von organischer Nahrung aus.

Münchener Wasserleitungswasser (Quellwasser aus dem Mangfallgebiet) enthält nach den vorliegenden Analysen nur ca. 2 mg organische Substanz pro Liter; das macht nur 2 Millionstel oder 0,0002 Proz. organischen Stoff. Trotzdem sind Bakterien in diesem Wasser enthalten.

Für Bierhefe scheint Methylalkohol keine Kohlenstoffnahrung zu sein; denn in 0,2-prozentiger noch mit den nötigen mineralischen Nährstoffen versehenen Methylalkohol-Lösung entstand nach Zusatz einer Spur frischer Preßhefe keine Hefen- sondern nur eine Bakterienvegetation (Verf. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 29). Die Bakterien, welche in der Preßhefe oder in dem zur Lösung des Methylalkohols angewendeten Wasser enthalten waren, gaben offenbar Veranlassung zu dieser Vegetation. Vielleicht ist auch hier das rasche Absetzen der Hefe Schuld an dem negativen Resultat gewesen (?).

Über die Methylalkoholernährung von Spalt- und Schimmelpilzen liegen wenige Beobachtungen vor.

Ich fand nur die Angabe (Lafar, Technische Mykologie. Bd. 1 p. 421), daß der Methylalkohol für Schimmelpilze keine Kohlenstoffquelle sei. Das scheint auch seine Richtigkeit zu haben.

Denn ich fand bei meinen Methylalkoholversuchen niemals Schimmelpilzvegetation vor.

Über Bakterien fand ich gar keine fremde Notiz.

Und doch ist der Methylalkohol für manche Bakterien und auch Hefepilze eine recht gute C-Quelle, wie wir gesehen haben.

Der Methylalkohol ist eine der niedersten Kohlenstoffverbindungen und schon dadurch von besonderem Interesse hinsichtlich der Kohlenstoffernährung von Organismen.

Außerdem steht er dem Formaldehyd nahe, in den er faktisch ziemlich leicht durch Oxydation übergehen kann, und tritt dadurch, weil der Formaldehyd das wahrscheinliche Zwischenglied bei der Kohlensäureassimilation ist, in nahe Beziehung zu den fundamentalsten aller physiologischen Vorgänge, der täglichen Erzeugung von Pflanzensubstanz aus Kohlensäure.

Damit kommen wir auf die Verwendbarkeit des Methylalkohols zur Kohlenstoffernährung grüner Pflanzen.

In allerletzter Zeit hat Verf. hierüber einige neue Versuche mitgeteilt, sie seien zunächst erwähnt (B., Weitere Beiträge zur Frage der organischen Ernährung grüner Pflanzen. Biochem. Zeitschr. 1915).

Kohl- (Wirsing-) Pflanzen erfahren eine bedeutende Förderung im Wachstum, wenn dieselben (als Topfpflanzen) mit mineralischer Nährlösung, der 0,2 Proz. Methylalkohol zugesetzt ist, begossen werden. Die Kontrollpflanze bleibt weit hinter der Methylalkoholpflanze zurück.

Auch bei Roggen war eine vorteilhafte Wirkung des Methylalkohols (0,2 Proz.) zu verspüren.

Bei *Araucaria* wirkte eine 1-proz. Methylalkohollösung im Lauf der Jahre ungünstig (zu starke Konzentration!).

Feuerbohnen wurden in Methylalkohollösungen als Wasserkultur (unter Beimischung der nötigen Mineralstoffe) gezogen. Es zeigte sich, daß die Pflanzen in 1—2 Proz. Methylalkohol vortrefflich wuchsen und alle Kontrollpflanzen weit überholten.

Auch die Entwicklung einer Sojabohnenwasserkultur in 0,5 Proz. Methylalkohol war sehr günstig.

Bei *Spirogyren* machte ich die Beobachtung (B., Habilitationsschrift Erlangen 1888), daß sie, entstärkt, nach dem Verbringen in 0,1—0,2 proz. Methylalkohollösungen binnen kurzer Zeit Stärke ansetzten (bei Kohlensäure-Ausschluß).

Quantitative Versuche an *Spirogyra*, dann *Cladophora*, ergaben eine bis doppelt so starke Trockensubstanz bei  $\text{CH}_3\text{OH}$ -Ernährung binnen 20 Tagen (Centralbl. f. Bakt. Bd. 30).

**Aethylalkohol** ( $C^2H^5 OH$ ).

Er gilt seit **Naegeli** (Sitz.-Ber. d. Ak. München 1888) als eine schlechte Kohlenstoffquelle für **Bakterien**.

Dabei ist er aber nur schwach giftig.

Selbst die so empfindlichen Infusorien ertragen 1-proz. Lösungen längere Zeit, manche Arten sogar mehrere Tage.

**Algen** ertragen eine 2-proz. Lösung bis 24 Stunden, nicht mehr aber eine Lösung von 4 Proz., während Schimmelvegetationen auch diese Konzentration noch ertragen, allerdings unter Hemmungserscheinungen.

Nach **Manassein** wirken erst 10 Proz. Alkohol zur Nährlösung gesetzt bedeutend schädigend auf Schimmelpilze ein.

Daß **Bierhefe** diese Konzentration noch erträgt ist bekannt.

Ich fand, daß 0,1—0,2-proz. Lösungen von Äthylalkohol (unter Zusatz von 0,02 Proz. Ammonsulfat...) **Bakterienvegetation** nach erfolgter Impfung erzeugen (Pflug. Archiv. Bd. 66).

Ich stellte mir eine Lösung des Alkohols in der Stärke 0,1 Proz. her, setzte etwas Mineralsalzlösung hinzu und dann eine Spur Spaltpilze.

Schon nach einigen Tagen zeigte sich Pilzvegetation, nach 6 Wochen waren reichlich Pilze gewachsen, wie es schien, immer zuerst an der Oberfläche eine Haut bildend, welche dann zu Boden sank, so daß schließlich unten ein ziemlich mächtiger Bodensatz von Pilzen sich vorfand. Die Lösung war dabei nicht sauer geworden.

Bei einem weiteren Versuch ergab sich ein ähnliches Resultat.

Eine wässrige Alkohollösung, welche 0,2 Proz. Alkohol (+ 0,02 Ammonsulfat + 0,05 Proz. Dikaliumphosphat + 0,02 Proz. Magnesiumsulfat) enthielt und mit einer Öse spaltpilzreicher Flüssigkeit geimpft wurde, brachte bei 5tägigem Aufenthalt im Brutofen eine Spaltpilzvegetation hervor, bestehend aus dicken Stäbchen, welche Neigung hatten, zu Fäden verbunden zu bleiben.

Dieselben riefen eine starke Trübung der Flüssigkeit hervor und traten auch in Form zusammenhängender Häutchen auf. Die Luft hatte reichlich Zutritt. Die Reaktion der Lösung nach Beendigung des Versuches war neutral.

Damit der Äthylalkohol zur Ernährung d. i. zur Kohlehydrat- und Eiweißbildung dienen kann, muß er natürlich oxydiert und gespalten werden. Als solcher kann er nicht zum Aufbau jener komplizierten Substanzen verwendet werden.

**Spaltpilze**, wenigstens gewisse Arten derselben, vermögen offenbar diese Spaltung und Oxydation (bis zur Atomgruppe  $CH_2O$ ) zu vollbringen.

Hingegen scheint die **Bierhefe** dazu nicht im Stande zu sein.

Denn eine 0,2-proz. Äthylalkohollösung, der noch 0,02 Proz. schwefelsaures Ammon + 0,02 Proz. schwefelsaure Magnesia + 0,05 Proz. Monokaliphosphat zugesetzt war, zeigte nach erfolgter Infektion mit Bierhefe und 4tägigem Aufenthalt im Brutofen keine andere Vegetation als Schimmel.

Ebenso scheint Methylalkohol für Bierhefe keine Kohlenstoffernährung zu sein, denn in 0,2-proz. mit einer Spur frischer Preßhefe versetzter Lösung entstand binnen mehreren Tagen im Brutofen keine Hefen sondern eine Bakterienvegetation. Die Bakterien, welche in der Preßhefe oder in dem zum Auflösen des Methylalkohols angewandten Wasser enthalten waren, gaben offenbar Veranlassung zu dieser Vegetation.

Auch nach **E. Laurent** (Ann. Pasteur. T. 2. 1888) kann weder Me-

thyl- noch Äthylalkohol der Bierhefe, wenn sie als Bodensatzhefe gezogen wird, zur Nahrung dienen.

Werden die Hefen als Hautzuchten auf der Oberfläche der Nährlösung gezogen, so vermögen sie auch Äthylalkohol zu verarbeiten (E. Laurent).

Es fragt sich nun, ob sie ihn nur verbrennen oder auch zur C-Ernährung verwenden.

Nach den vorhin angeführten Befunden ist doch es wohl unwahrscheinlich, daß Hefe den Äthylalkohol oder Methylalkohol wirklich assimiliert.

Es wird sich also wohl um eine Oxydation handeln, durch welche der Hefepilz Kraft zu anderen Lebensleistungen gewinnt.

Duc laux (Ann. Pasteur. T. 3. 1889.) gibt an, daß *Eurotiosis Gayoni* gerne Äthylalkohol verbraucht ein Pilz mit so eigenartiger Geschmacksrichtung, daß er Zucker nicht besonders liebt! Wozu verbraucht er jenen?

Nach Coupin (Compt. rend. de l'acad. de Paris. T. 138. 1904.) assimiliert *Aspergillus niger* zwar Äthylalkohol (und Glycol). Dabei ist Methylalkohol und Glycol nicht giftig für Pflanzen.

Dieser Befund ist schon eigentümlich, da doch sonst sich Methylalkohol als Kohlenstoffquelle besser eignet als Äthylalkohol.

So auch bei grünen Pflanzen.

Ich konnte an Wasserkulturen von *Phaseolus multiflorus* binnen mehreren Wochen feststellen, daß 0,5 Proz. Methylalkohol in der Nährlösung vorteilhaft wirkt, so daß die Methylalkoholpflanzen den Kontrollpflanzen in der Entwicklung bedeutend über sind.

Als ich dann Bohnenkeimlinge als Wasserkulturen zog unter Zusatz von 0,5 oder 1 oder 2 Proz. Äthylalkohol (neben Mineralsalz), zeigte sich anfangs bei 0,5 Proz. eine Überlegenheit gegenüber dem Kontrollversuch. Nach 6 Wochen war zwar freudige Weiterentwicklung aber keine Überlegenheit mehr zu erkennen. Bei 2 Proz. und 1 Proz. waren nach 4 Wochen die Pflanzen in der Entwicklung stehen geblieben, bei 2 Proz. teilweise abgestorben.

2 Proz. und 1 Proz. Äthylalkohol ist entschieden schädlich für Bohnen-Wasserkulturen, 0,5 Proz. ist unschädlich, vielleicht sogar etwas vorteilhaft, freilich nur am Anfang.

Propylalkohol ( $\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \text{OH}$ ).

Versuche mit Hefe ergaben ein negatives Resultat (B. in Dingl. pol. J. Bd. 303. 1897). Hingegen wuchsen Spaltpilze bei folgendem Versuch:

Es wurden Lösungen hergestellt, welche 0,2 Proz. Propylalkohol + 0,02 Proz. Ammonsulfat + 0,02 Proz. Magnesiumsulfat + 0,05 Proz. Monokaliumphosphat enthielten, und mit einer Spur frischer Preßhefe versetzt.

Nach 6 tägigem Aufenthalt im Brutofen hatte sich eine Pilzvegetation gebildet; aber diese bestand aus Spaltpilzhäuten, welche die Oberfläche einnahmen, dann sich absetzten.

Da keine andere C-Quelle da war, muß man annehmen, daß Propylalkohol zur Ernährung gedient habe, nicht bloß etwa zur Verbrennung.

Das Wachstum an der Oberfläche weist darauf hin, daß bei Verwertung von Propylalkohol Sauerstoff eingreifen muß, das kann man ja auch an der chemischen Formel dieser ziemlich sauerstoffarmen Verbindung erkennen. Es ist zur Bildung von Atomgruppen  $\text{CH}_2\text{O}$  viel zu wenig Sauerstoff da.

Also ist die Propylalkohol-Ernährung vom Sauerstoff abhängig.

Auch Schimmel vermag den Propylalkohol als C-Quelle zu verwenden. In 0,2proz. mit allen nötigen Mineralstoffen versehenen Lösung von Propylalkohol wuchs mir bei einem Versuch im Brutofen keine Spaltpilz-, sondern eine Schimmelpilz-Vegetation, bestehend aus langen gegliederten Mycelfäden und Sporen (Verf. in Pflug-Arch. f. Physiol. Bd. 66).

An grünen Pflanzen wurden mit Propylalkohol nicht viele Ernährungs-Versuche gemacht.

Verf. fand, daß Spirogyren im 0,2-proz. Propylalkohol-Lösung bei Kohlensäureausschluß und Lichtzutritt keinen Stärkeansatz ergaben binnen 4—6 Stunden.

Einige Versuche wurden ferner mit Keimlingen, die als Wasserkultur aufgezogen wurden, angestellt.

Bei Bohnenkeimlingen wurde der mineralischen Nährlösung 0,5 Proz. oder auch 1 Proz. Propylalkohol zugesetzt.

Schon bei 0,5 Proz. kümmerliche Wurzelentwicklung.

Bei 1 Proz. fand gar keine Weiterentwicklung statt.

0,5 Proz. und noch mehr 1 Proz. Propylalkohol ist für Feuerbohnenkeimlinge, die als Wasserkulturen gezogen wurden, schädlich.

An Rettigkeimlingen stellte ich nur einen, den vorigen ähnlichen, Versuch an und zwar gleich mit 2 Proz. Propylalkohol.

Die Keimpflanze zeigte sich nach 14 Tagen ohne weitere Entwicklung, sie war in allen Teilen abgestorben.

Isopropylalkohol  $[\text{CH}_3/\text{CHOH}]$ .

Hierüber liegen recht spärliche Angaben vor.

Ich fand vor einiger Zeit, daß Spirogyra in 0,2 Proz. dieses Stoffes bei Zutritt von Licht und Ausschluß von Kohlensäure keinen Stärkeansatz ergibt, wiewohl sie darin unbeschädigt bleibt (Pflüg. Arch. Bd. 69).

Da schon Propylalkohol negatives Resultat ergeben hat, so ist derselbe Befund bei Isopropylalkohol nicht erstaunlich, da er ebenfalls nur ein Sauerstoffatom auf 3 Kohlenstoff und 8 Wasserstoffatom enthält, somit eine ausgiebige Oxydation der Verwendung vorhergehen müßte.

Amylalkohol (Gärungs-)  $[(\text{CH}_3)_2\text{CH}.\text{CH}_2.\text{CH}_2.\text{OH}]$ .

Ich versuchte, Amylalkohol bei Bierhefe als einzige Kohlenstoffquelle anzuwenden, in 0,2-proz. Lösung.

Darin entstand aber nach Zusatz einer Spur Preßhefe (nebst den nötigen Mineralsalzen) keine Hefen- sondern nur eine schwache Bakterienvegetation. Die Lösung trübte sich im Brutofen binnen 4 Tagen.

Für Hefe scheint dieser stark riechende Alkohol giftig zu sein oder doch keine Kohlenstoffquelle (B., Dingl. polyt. Journ. Bd. 303.)

Ein anderesmal stellte sich in dieser Lösung zuerst eine Spaltpilz- dann eine Schimmelvegetation ein.

Nach Coupin ist Amylalkohol schwach giftig für Aspergillus niger (c. r.) T. 136.

0,2 Proz. wirkt auf Algen nicht ernährend ein; ich beobachtete keine Stärkebildung in Spirogyren.

Sogar 0,1 Proz. schon wirkt allmählich schädlich ein. Binnen einigen Tagen hört die Kohlensäureassimilation auf.

Versuche an höheren Pflanzen sind meines Wissens nicht gemacht worden. Doch läßt sich wohl ein negatives Resultat voraussehen, da auch schon Algen den Amylalkohol nicht assimilieren.

Bei ihm ist die Notwendigkeit einer Zertrümmerung des Moleküls durch Einwirkung des Sauerstoffs bis zur Bildung von  $\text{CH}_2\text{O}$ -Gruppen noch einleuchtender als bei den Alkoholen mit 2, 3, 4 Kohlenstoffatomen, die vor der Umwandlung in Kohlehydrat oder Eiweiß unbedingt erforderliche chemische Arbeit noch schwieriger.

**Butylalkohol** [ $\text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$ ].

Derselbe ist nach Coupin (C. V. 1903) giftig für *Aspergillus niger*.

Spirogyren ertragen 0,2 proz. Lösung längere Zeit, ohne Schaden zu nehmen, Stärkeansatz aber konnte ich nicht beobachten.

Meines Wissens ist niemals ein positiver Ernährungserfolg bei Pilzen oder grünen Pflanzen festgestellt worden.

Er ist für Algen, wie oben erwähnt, nicht giftig; sie können ihn aber zur Ernährung nicht verwenden.

**Isobutylalkohol** [ $\text{C}_3\text{H}_7\cdot\text{CH}_2\cdot\text{OH}$ ].

Nach O. Loew und Naegeli erhält (a. a. O. p. 437) man eine Schimmelvegetation, wenn man eine Nährlösung von

Wasser . . . . .	300 g
Isobutylalkohol . . . . .	0,5 g
Ammonphosphat . . . . .	0,25
Magnesiumsulfat . . . . .	0,08
Dikaliumphosphat . . . . .	0,30

mit Schimmel besät. Die nach 8 Monaten abfiltrierte Ernte betrug 0,048 g.

Die Konzentration der einzigen Kohlenstoffquelle Isobutylalkohol bei diesem Versuch betrug 0,5 : 300, d. i. 0,17 Proz.

Auf diese relativ große Verdünnung mag das geringe Erntegewicht teilweise zurückzuführen sein; z. T. aber auch auf die schlechte Nährkraft.

Mit Rettigkeimlingen und Isobutylalkohol (0,5 Proz. nebst den nötigen Nährsalzen) erhielt ich negativen Erfolg (Absterben). B., Centralbl. f. Bakt. Bd. 30. Ebenso mit Spirogyren (kein Stärkeansatz mit 0,2 Proz.).

**Benzylalkohol** [ $\text{C}_6\text{H}_5\cdot\text{CH}_2\text{OH}$ ].

„Wenn man Benzylalkohol zuerst mit etwas Weingeist löst und dann mit Wasser vermischt bis zur Verdünnung 0,1 Proz., so erhält man eine stark ätherisch riechende Flüssigkeit, welche bei 24 stündiger Einwirkung Algen und Infusorien tötet.

Die Aussicht, Bakterien damit zu ernähren, ist also nicht groß.

Trotzdem stellte ich einige Versuche auf, die aber negativ ausfielen.

Man sieht, daß durch den Eintritt einer Phenylgruppe ( $\text{C}_6\text{H}_5$ ) in das Molekül des Methylalkohols ( $\text{C}_6\text{H}_5\cdot\text{CH}_2\text{OH}$  statt  $\text{CH}_3\cdot\text{OH}$ ) eine giftige (oder doch ernährungswidrige) Beschaffenheit hervorgerufen wird (B. in Centralbl. f. Bakt. 30. Bd.).

Ein weiterer Erfolg war folgender (ebenfalls mit negativem Erfolg):

In Benzylalkohollösung von 0,2 Proz., welche mit den nötigen Mineralstoffen versetzt war und 8 Tage lang im Brutofen bei  $27^\circ$  aufgestellt war, trat trotz Infektion mit Spur Preßhefe keine Pilzvegetation hervor.

Der Benzylalkohol kann also weder Hefepilzen noch Spaltpilzen oder Schimmelpilzen als Kohlenstoffnahrung dienen (B. in Dingl. polyt. Journ. Bd. 303).

Für *Aspergillus niger* ist Benzylalkohol nach Coupin (a. O.) giftig.

*Spirogyren* werden von 0,1 Proz. Benzylalkohol binnen 24 Stunden getötet.

Man kann also wohl sagen, daß Benzylalkohol kein Nährstoff, weder für Pilze, noch für grüne Pflanzen ist.

Höhere Pflanzen wurden allerdings nicht versucht.

Doch ist nach den Resultaten mit niederen Pflanzen zu erwarten, daß auch sie negative Resultate ergeben werden.

Denn es ist ja nach den bisherigen Ergebnissen schon klar, daß eine gewisse Übereinstimmung in diesem Punkte zwischen niederen und höheren Organismen, ja sogar zwischen Pilzen und grünen Pflanzen besteht.

Glycerin,  $\text{CH}_2\text{OH}.\text{CHOH}.\text{CH}_2\text{OH}$ .

Blätter von *Cacalia* (Composite) bilden im Dunkeln Stärke (A. Meyer, Bot. Ztg. 1885).

Kartoffeltriebe ebenfalls (E. Laurent, sur la formation d'amidon. Brüssel 1888).

*Lemna* ernährt sich davon (B. in Landw. Vers. Stat. 1889) und vermehrt die Trockensubstanz aufs Doppelte binnen einigen Wochen. Dgl. *Cladophora* (diese auch im Dunkeln).

Kohlpflanzen mit Glycerinlösungen begossen nehmen viel mehr an Trockengewicht zu, als andere sonst gleiche (B. in Biochem. Zeitschr. 1915).

Für Pilze ist das Glycerin bekanntlich eine vortreffliche Kohlenstoffnahrung.

Aethylenglycol,  $\text{CH}_2\text{OH}.\text{CH}_2\text{OH}$ .

Für Pilze ist dasselbe meist eine gute C-Nahrung.

*Spirogyren* setzen in Glykollösungen Stärke an.

Erythrit  $\text{C}_4\text{H}_8(\text{OH})_4$ .

Soll von *Aspergillus niger* assimiliert werden (Coupin).

Nach A. Meyer und E. Laurent dient es grünen Blütenpflanzen nicht als C-Nahrung.

Tetramethylglycol  $\begin{array}{c} \text{C}(\text{CH}_3)_2.\text{OH} \\ | \\ \text{C}(\text{CH}_3)_2.\text{OH} \end{array}$ .

Dasselbe taugt nach O. Loew nicht zur Ernährung von Bakterien, wiewohl es nicht giftig ist.

Mannit, Hexanhexol,  $\text{C}_6\text{H}_{14}(\text{OH})_6$ .

Entstärkte Oleaceen-Blätter bilden auf Mannitlösungen Stärke (A. Meyer). Kartoffeltriebe ebenfalls (E. Laurent). Für Hefe und Schimmelpilze C-Nahrung.

Dulcitol, Melampyrin,  $\text{C}_6\text{H}_{12}(\text{OH})_6$ , stereoisomer mit Mannit.

Dasselbe ernährt Pilze.

Blätter von *Evonymus* (A. Meyer), ferner Kartoffelsprosse (E. Laurent) bilden Stärke.

Trimethylcarbinol  $(\text{CH}_3)_3.\text{COH}$ .

Algen (*Spirogyren*) setzen in seinen Lösungen keine Stärke an, bleiben aber längere Zeit ungeschädigt (B. in Landw. Vers. Stat. 1889).

Versuche über Pilze sind mir nicht bekannt.

**Phenol** [ $C_6H_5.OH$ ].

Naegeli rechnet das Phenol zu den schlechtesten Kohlenstoffquellen. Aber es wirkt doch bei Spaltpilzen, als einzige Kohlenstoffquelle geboten, wenigstens spärlich ernährend.

In einer Nährlösung, welche 0,08 Proz. Phenol und etwa 0,2 Proz. Ammoniak außerdem 0,2 Proz. mineralische Nährsalze enthielt, ganz schwach alkalisch reagierte, trat bei Zimmertemperatur Trübung ein; in einem Versuch entstand eine *Micrococcus* form nebst spärlichen Sproßpilzen, im anderen derselbe *Micrococcus* in geringer Zahl mit vielen Sproßpilzen vermischt (a. a. O.).

Ich stellte mir eine etwas andere Lösung her, nachdem ich aus O. Loew's Angaben den Grad der Giftigkeit ersehen hatte.

Letzterer sagt darüber: In 1-proz. Lösung sterben Algen nach 20—30 Minuten (Infusorien fast momentan). In 0,1 Proz. Phenol können Algen 3 Tage am Leben bleiben; doch sind dann feinkörnige Ausscheidungen im Zellsafte sichtbar, welche sehr wahrscheinlich Verbindungen von Phenol mit dem gespeicherten aktiven Albumin sind; dieselben verschwinden beim Einsetzen der Algen in reines Quellwasser nicht wieder.

Milzbrandbazillen sterben nach 2 Minuten in 1 Proz. Phenol, Tetanusbazillen aber binnen 24 Stunden nicht (Giftwirkungen. p. 50).

Ich ging auf Grund dieser Angaben auf 0,05 Proz. zurück, um sicher eine Giftwirkung zu vermeiden.

In eine Nährlösung, welche 0,05 Proz. Carbonsäure als einzige Kohlenstoffquelle und außerdem die nötigen Mineralstoffe enthielt, verbrachte ich zunächst keine Pilze, vielmehr verließ ich mich auf die nie fehlenden Luft- und Wasserpilze. Nach 8 tägigem Verweilen des Versuches in einem 28° C warmen Brutschrank hatte sich eine schwache Schimmelvegetation eingestellt, keine Bakterien waren gewachsen. Die Lösung reagierte schwach sauer, was vielleicht das Auftreten der Bakterien verhinderte. Für Schimmel ist also die Carbonsäure bei diesem Versuch eine, wenn auch schlechte, Kohlenstoffquelle gewesen.

Ein gleicher Versuch, dem aber eine Spur Hefe zugesetzt worden war, erzeugte binnen 8 Tagen keinerlei Pilzvegetation, weder Hefe noch Spaltpilze, noch Schimmelpilze; dabei war aber das zur Lösung angewandte Wasser nicht sterilisiert und auch sonst keine Desinfektion vorgenommen worden. Die Hefe vermehrte sich nicht.

Für Hefe ist also Phenol keine Kohlenstoffquelle.

Wenig verheißend schienen mir nach den an Pilzen gemachten Erfahrungen Versuche mit Algen und anderen grünen Pflanzen zu sein.

Ich stand zunächst davon ab, nachdem schon O. Loew an *Spirogyra* mit 0,1-proz. Karbonsäurelösung keine Stärkebildung beobachten konnte. Die Algen blieben zwar noch am Leben, arbeiteten aber nicht.

Später freilich fand ich, daß *Spirogyren* in 0,05 Proz. binnen 5 Tagen deutlich Stärke ansetzen (bei Lichtzutritt und  $CO_2$ -Ausschluß).

**O - Kresol** [ $C_6H_4.CH_3OH$ ].

Eine 0,1-proz. Lösung von Orthokresol mit den nötigen Mineralstoffen versetzt, behielt bei 3 Wochen langem Stehen im Brutofen den eigentümlichen Geruch unverändert bei und zeigte keinerlei Pilzvegetation (B., Centralbl. f. Bakt. 30. Bd.).



Das ist der einzige Versuch, den ich über O-Kresol als eventuelle Kohlenstoffquelle bei Pilzen in der Literatur vorfinde.

Kein Wunder, da ja das Kresol als Gift gegen Mikroorganismen angewendet wird (z. B. im Lysol).

Übrigens fand ich 0,01 Proz. nicht mehr giftig wirkend.

Das dürfte nun allerdings eine zur Ernährung wenig taugliche Verdünnung sein.

Das O-Kresol versprach keinen Erfolg. Darum stand ich bei ihm von weiteren Ernährungsversuchen ab, wie auch beim

P - Kresol  $[C_6H_4.CH_3.OH]$ ,

das sich ebenso wie die O-Verbindung als giftig erwies (B. in Pflüg. Arch Ortho- und Para-Verbindungen).

In einer 0,1 proz. Lösung entstand keinerlei Pilzvegetation.

Ähnlich verhält es sich auch mit den folgenden Stoffen:

Hydrochinon  $[C_6H_4 \begin{smallmatrix} \text{OH}_{(1)} \\ \text{OH}_{(4)} \end{smallmatrix}]$ .

In Hydrochinonlösung von 0,1 Proz. starben nach meinen Beobachtungen Algen, wie *Cladophora*, *Spirogyra*, *Conferva*, *Vaucheria*, Diatomeen (und Infusorien) binnen 24 Stunden ab.

Mit 0,05 Proz. erhielt ich keine entschiedene Bakterienvegetation.

Nach 10tägigem Stehen zeigte die (nun braun gefärbte) mit allen nötigen Nährsalzen versehene 0,05 proz. Lösung einen schwachen Niederschlag, der mir aber nicht aus Bakterien zu bestehen schien. Es war anfangs eine Spur Bakterien zugesetzt worden (B., Pflüg. Arch. Bd. 66.).

Hingegen wuchs in einer 0,05-proz. Lösung von Hydrochinon binnen 8 Tagen eine ziemlich kräftige Schimmelpilzvegetation heran, aber keine Hefe (B., Dingl. pol. Journ. Bd. 303.).

Resorcin,  $C_6H_4(OH)_2$  1, 3.

Es scheint ebenfalls keine Kohlenstoffnahrung für Bakterien zu sein.

Denn eine 0,5-proz. mit allen Mineralsalzen versehene Auflösung desselben blieb bei 10tägigem Stehen im Brutofen frei von Bakterien.

Hingegen war eine Anzahl kleiner Schimmelrasen gewachsen.

Dieselben bestanden aus verzweigten gegliederten Fäden und waren zum größten Teil festgewachsen (B., Centralbl. f. Bakt. Bd. 30. 1911.).

Bei größerer Verdünnung des Resorcins erhielt ich ein schwaches positives Resultat mit Bakterien.

Denn bei 8tägigem Stehen einer 0,05-proz. mit mineralischer Nahrung versehenen Auflösung im Brutofen kam eine schwache Trübung zum Vorschein, die unter dem Mikroskop als Bakterientrübung erkannt wurde.

Hefevergetation wurde bei diesen Versuchen niemals erhalten (B. in Dingl. pol. Journ. Bd. 303.).

Brenzkatechin,  $C_6H_4(OH)_2$  1, 2.

Infolge seiner ebenfalls giftigen Beschaffenheit erhält man mit Brenzkatechinlösungen (0,05 Proz.) ebenfalls keine oder nur schwache Bakterientrübung (B. a. a. O.).

Hefewächst in solchen Lösungen nicht.

Phloroglucin,  $C_6H_3(OH)_3$  1, 3, 5.

Eine Phloroglucinlösung von 0,05 Proz. blieb bei meinen Versuchen inner-

halb 10 Tagen fast ganz steril, obwohl alle nötigen Mineralstoffe und eine Spur Spaltpilze zugesetzt worden war (B., Centralbl. f. Bakt. Bd. 30. 1911).

#### Gallussäure $C_6H_2(OH)_3 \cdot CO_2H$ .

In einer Auflösung welche 0,05 Proz. Gallussäure und die nötigen Mineralsalze enthielt, wuchs keine Hefe, (trotz Impfung) dagegen in geringer Menge ein Schimmelpilz.

Man darf nicht glauben, daß etwa die saure Reaktion der Flüssigkeit das Wachstum der Hefe verhindert habe. Denn bei der Verdünnung 0,05 Proz. ist die saure Reaktion der Gallussäure so schwach, daß die Hefe dadurch nicht geschädigt wird. Die Gallussäure ist keine Kohlenstoffnahrung für Hefe.

Bei einem früheren Versuch (B. im Centralbl. f. Bakt. Bd. 30. 1911) mit 0,05 Proz. Gallussäure erhielt ich nach 10 tägigem Stehen der Flüssigkeit eine tiefbraune Färbung und eine nicht unerhebliche Pilzvegetation.

Es war aber, wie die mikroskopische Untersuchung lehrte, ein Schimmelpilz, trotzdem die Reaktion der Flüssigkeit neutral war und absichtlich Bakterienspuren hineingebracht worden waren.

Für Bakterien scheint die Gallussäure ebensowenig eine Nahrung zu sein wie für Hefe; dagegen nährt sich Schimmel davon.

#### Tannin, Digallussäure.

Eine 0,05-proz. Auflösung erzeugte eine ziemlich starke Schimmelvegetation.

Nach 10 tägigem Aufenthalt im Brutofen war die Lösung sehr dunkel gefärbt und mit Schimmelpilzen angefüllt.

Die Reaktion der Flüssigkeit war neutral.

Trotzdem waren Schimmelpilze und keine Bakterien gewachsen.

Bei einem Versuch derselben Art wurde von vornherein eine Spur Preßhefe zugesetzt.

Die Lösung blieb im Brutofen 8 Tage lang steril, es wuchs keine Hefe. Für Hefe ist Tannin also keine Nahrung.

#### Pyrogallussäure, Pyrogallol, $C_6H_3(OH)_3$ . 1, 2, 3.

Eine 0,05-proz. Lösung derselben nimmt bei 10 tägigem Stehen eine tiefbraune Färbung an, es stellt sich weder eine Schimmel- noch eine Spaltpilzvegetation ein. Dabei hat die Lösung neutrale Reaktion. Mineralsalze waren zugegeben.

Als ich einen weiteren Versuch derselben Art aufstellte und von vornherein eine Spur Preßhefe zusetzte, unterblieb jedes Hefewachstum.

Die Lösung war nach 8 Tagen Aufenthalt im Brutofen noch steril.

Die starke Sauerstoffabsorption durch die Lösung ist wahrscheinlich Schuld an dem negativen Ergebnis.

#### Resumé über die Ernährungskraft der Alkohole.

Es läßt sich ein deutlicher Parallelismus zwischen der Nährkraft gegen Pilze und grüne Pflanzen erkennen.

In Methylalkohollösungen von geeigneter Konzentration ernähren sich Pilze. Spirogyren bilden darin Stärke. Kohl-, Roggen-, Bohnenpflanzen erfahren, damit begossen, eine stärkere Gewichtszunahme als die Kontrollpflanzen.

Mit Äthylalkohol kann man Pilze meist nur schlecht ernähren. Ausnahmen gibt es.

Die Ernährung von *Spirogyra* mit Äthylalkohol ist zweifelhaft.

Auch über die Tauglichkeit des Äthylalkohol als C-Nahrung bei Pilzen liegen widersprechende Angaben vor.

Hoyer stellt sie für *Bact. aceti* in Abrede (Deutsche Essigind. 1899).

Dagegen gedeiht nach Henneberg *B. ascendens* nur dann, wenn in der künstlichen Nährlösung auch Äthylalkohol geboten wird.

Die Tauglichkeit des Äthylalkohol als alleiniger C-Quelle wurde für Mycodermen und für einige Schimmelpilze schon vor längerer Zeit erkannt, für eine große Anzahl von Schimmelpilzen, Sproßpilzen, niederen Ascomyceten durch P. Lindner und St. Czi ser erwiesen (Wochenschr. f. Brauer. Bd. 29. 1912).

Im übrigen weist die Gruppe der Alkohole manch gute Kohlenstoffquelle auf.

Nach Henneberg ist für *Bact. industrium* das Glycerin eine weit bessere Nahrung als irgendeine andere Kohlenstoffquelle.

Dasselbe ist auch für grüne Pflanzen (Algen und höhere Pflanzen) eine vortreffliche Nahrung.

Äthylenglykol nährt Bakterien, nährt Algen.

Mannit wird von Hefe assimiliert.

Mannit ist tauglich zur Stärkbildung bei Phanerogamen.

Bei Dulzit verhält sichs ebenso.

Benzylalkohol ergibt negatives Resultat bei Pilzen wie bei Algen.

Die Phenole sind meist wegen ihrer Giftigkeit beiderseits nicht zu brauchen.

Das Phenol im engeren Sinne (die Karbolsäure) ernährt freilich bei 0,08 Proz. noch Bakterien, 0,05 Proz. noch Schimmel.

Spirogyren setzen in 0,05 Proz. Karbolsäure Stärke an.

Was den spezifischen Einfluß der Pflanzenprotoplasmen bei der Ernährung mit Alkoholen anbelangt, so ist manches Auffallende zutage gefördert worden.

So berichtet Duclaux (Ann. Past. T. 3. 1889), daß *Euryopsis Gayoni* „gerne“ Äthylalkohol verbraucht, der, wie erwähnt, meist nur eine schlechte Kohlenstoffquelle ist.

*Aspergillus Niger* assimiliert nach Coupin (Compt. rend. T. 28. 1904.) Äthylalkohol, Glycerin, Erythrit und Mannit, nicht aber Methylalkohol oder Glycol.

Glycol ist eine sonst gute Kohlenstoffnahrung für Pilze und Algen.

Warum wird es von *Aspergillus niger* nicht assimiliert?

*Bacterium vernicosum* verzehrt nach Joseph wohl Mannit, nicht aber Dulcit oder Erythrit oder Glycerin.

Da bei diesen Körpern ähnliche Konstitution herrscht, indem sämtliche Kohlenstoffatome als Alkoholgruppen ausgebildet sind, muß dieses Resultat Wunder nehmen.

Hierfür ist eine Erklärung bis jetzt schwer möglich.

Doch darf diese Sache nicht mehr allzusehr angestaunt werden, nachdem von ein und derselben Pilzart, z. B. die Rechtsweinsäure verzehrt wird, die Linksweinsäure nicht (siehe später).

Tabellarische Zusammenstellung der Hauptresultate.

Name der Substanz, Chemische Formel	Nährkraft bei Pilzen	Nährkraft bei grünen Pflanzen	Bemerkungen
Alkohole u. Phenole: Methylalkohol $\text{CH}_3\cdot\text{OH}$	Methylalkohol 10 % ernährt Pilze nicht (wirkt schädlich); 5% ernährt manche Pilze, aber sehr langsam; 2% rascher; 0,5 % sehr gut; selbst 0,0025 % ernährt. Die ernährten Pilze sind teils kleine Hefearten, teils Bakterien. Auch Schimmel ernährt $\text{CH}_3\cdot\text{OH}$ . Verf. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 29). Bierhefe assimiliert ihn nicht (B., Dingl. polyt. Journ. Bd. 303	Spirogyren wachsen in Methylalkohollösungen von 0,1% bei Kohlensäureausschluß, Lichtzutritt, bilden Stärke (B., Hab.-Schr., Erlangen 1888) Kohl (Wirsing), Roggen, Bohnen usw. werden durch 0,2 % Methylalkohol ernährt (B., Biochem. Zeitschr. 1915)	Kulturpflanzen nehmen zu. Bei Kohl war beispielsweise das Gewicht der Keimpflanze unt. $\text{CH}_3\text{OH}$ Zufuhr (neben $\text{CO}_2$ ) binnen 3 Monaten von 2 auf 138 g gestiegen, bei der Kontrollpflanze, die nur Kohlensäure bezog, bloß auf 74,4 g
Äthylalkohol $\text{C}_2\text{H}_5\cdot\text{OH}$	Eurotiosis Gayoni (Schimmelpilz) assimiliert mit Vorliebe Äthylalkohol (Ducloax, A. u. Pasteur. 1889. Bd. 3). Schimmel erträgt bis 4 % $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ . Aspergillus niger soll $\text{C}_2\text{H}_5\cdot\text{OH}$ assimilieren. Dieser ernährt Bakterien, aber schlecht (Naegeli, Sitzgsber. d. Münch. Akad. d. Wiss. 5. Juli 1879). Hefe ernährt er nicht (B. in Dingl. polyt. Journ. Bd. 303). 0,1 u. 0,2-proz. Lösungen von $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (unter Zusatz von 0,02 % Ammonsulfat . . .) erzeugen Bakterienvegetation bei erfolgter Impfung (B., Pflüg. Arch. Bd. 66)	Ernährung von Spirogyren mit 0,2% Äthylalkohol zweifelhaft (in 4—6 Stunden) (B. in Chem. Ztg. 1894. 18. No. 2). Algen ertragen 2% bis 24 Stunden, nicht aber 4%. Bohnenkeimlinge sterben in 0,5% binnen 4 Wochen nicht ab	Vielleicht bei längerer Versuchszeit positives Resultat an Algen möglich
Propylalkohol $\text{CH}_3\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\text{OH}$	Ernährt Hefe nicht, wohl aber Spaltpilze (B. in Dingl. polyt. Journ. Bd. 303). $\text{O}_2$ nötig hierzu. Giftig für Aspergillus niger (Coupin, Compt. rend. 1903. Bd. 136)	Spirogyra ergab binnen 5 Stunden bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß keine Stärke (Konz. 0,2%). B. a. a. O.	0,5% für Bohnenkeimlinge nicht unschädlich, 1% hemmt jede Entwicklung (B., Centralbl. f. Bakt. Bd. 30. 1911)
Isopropylalkohol $(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$		do. 0,2% wird längere Zeit ohne Schaden von Spirogyren ertragen; kein Stärkeansatz	B., Pflüg. Arch. Bd. 64

Gärungs-Amylalkohol (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH.CH <sub>2</sub> .CH <sub>2</sub> .CH <sub>2</sub> .OH	Ernährt Hefe nicht, Bakterien schwach (B. a. a. O.). Schwach giftig für Asp. niger (Coupin a. a. O.)	0,1 % wirkt auf Algen allmählich schädlich. Nach 18 Stunden noch CO <sub>2</sub> -Assimilation, nach 2 oder 4 Tagen nicht mehr; doch noch viele am Leben	B. ebenda Vielleicht bei noch größerer Verdünnung die Assimilation (??)
Butylalkohol C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> .OH	Giftig für Asp. niger (Coupin a. a. O.)	Wird in 0,2-proz. Lösung vom Spirogyren längere Zeit ohne Schaden ertragen	B. a. a. O. Ebenso Tri-methylkarbinol (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> C.OH
Isobutylalkohol C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> .CH <sub>2</sub> .OH	Ernährt Schimmel, aber schlecht (Naegeli a. a. O.)	do., kein Stärkeansatz	B. a. a. O.
Benzylalkohol C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> .CH <sub>2</sub> .OH	Ernährt weder Hefe, noch Schimmel, noch Spaltpilze (B. a. a. O.) Giftig für Asp. niger (Coupin a. a. O.)	0,1 % tötet Spirogyren binnen 24 Stunden; ist giftig (durch den Eintritt der Phenylgruppe?)	B. a. a. O.
O-Kresol C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> .CH <sub>3</sub> .OH	Ernährt Spaltpilze nicht (B., Pfl. Arch. Bd. 66)		
Phenol, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> .OH (Karbolsäure)	In 0,08 % ernähren sich Bakterien (Naegeli, Sitzgsber. d. Akad. Münch. 1879). In 0,05 % wächst Schimmel (B., Pflüg. Arch. Bd. 66). Ernährt Hefe nicht	In 0,1 % leben Spirogyren 3 Tage weiter, zeigen aber feinkörnige Ausscheidungen In 0,05 % zeigt sich nach 5 Tagen deutlicher Stärkeansatz bei CO <sub>2</sub> -Ausschluß	O. Loew, Giftwirkungen, p. 50 B., Chem. Ztg. 1894. 18. No. 2
Glycerin CH <sub>3</sub> .OH.CH <sub>2</sub> .OH.CH <sub>2</sub> .OH	Vortreffliche Kohlenstoffernährung für Bakterien (0,2 %) (Naegeli, Sitzgsber. d. Münch. Akad. 1879), desgleichen für Sproßhefe. Guter Nährstoff für Schimmel (Lafar, Techn. Mykologie I. p. 421)	Aus Glycerin bilden Spirogyren Stärke. Desgleichen Phanerogamen. Kohlpflanzen nehmen bei Glyceriner-nährung (0,25 %) binnen 3 Monaten viel stärker zu als solche bei ausschließlicher Kohlensäureernährung (B. biochem. Zeitschr. 1915)	A. Meyer (Bot. Ztg. 1886) erhielt an der Composite <i>Cacalia suaveolens</i> posit. Resultat (sonst nicht), E. Laurent (Bruxelles 1886) an ausgehungerten Kartoffeltrieben (mit 10 % !)
Äthylenglykol CH <sub>2</sub> .OH.CH <sub>2</sub> .OH	Gute Kohlenstoffernährung für Bakterien (in 0,2-proz. Lösung). B., Hab.-Schr. Erlangen 1888. Soll von Asp. niger nicht assimiliert werden (Coupin, Compt. rend. 1903. Bd. 136)	In 0,1—0,2 % setzen Spirogyren Stärke an, bei Lichtzutritt u. Kohlensäureausschluß (B. landw. Vers.-St. 1889). Von 0,5 % ab entschieden ungünstig auf Spirogyren wirkend	Im Laufe von einigen Tagen werden die Stärkesammlungen ungewöhnlich groß (neben Glykol nur Spur schwefelsauren Kalis anwesend)

## (Fortsetzung.)

Name der Substanz, Chemische Formel	Nährkraft bei Pilzen	Nährkraft bei grünen Pflanzen	Bemerkungen
Erythrit $C_4H_8(OH)_4$	Nach Coupin soll Erythrit von Asp. niger assimiliert werden (a. a. O.)	Mit dem 4-wertigen Alkohol-Erythrit erhielt sowohl A. Meyer als E. Laurent negatives Resultat (bei Blütenpflanzen). Bot. Ztg. 1886	Auch Spirogyren zeigen keinen Stärkeansatz binnen 48 Stunden in 0,2 % Erythrit (B., Chem. Ztg. 1894. No. 2)
Tetramethylglykol $C(CH_2)_2 \cdot OH$   $C(CH_2)_2 \cdot OH$	Ganz untauglich zur Ernährung von Bakterien wiewohl nicht giftig. (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1892, No. 11 u. 12.)		
Name der Substanz, Chemische Formel	Nährkraft bei Pilzen	Nährkraft bei Algen und höheren grünen Pflanzen	Bemerkungen
Mannit, Hexanhexol $C_6H_{14}(OH)_6$ sechswertiger Alkohol	Wird von Hefe assimiliert. (E. Laurent). Ebenso von Asp. niger (Coupin). Guter Nährstoff für Schimmelpilze (Lafar, Techn. Mykologie. I. p. 421)	Tauglich zur Stärkebildung bei Phanerogamen (Oleaceenblätter, Kartoffelsprosse) (E. Laurent, A. Meyer)	
Dulcit, Melange wie $C_6H_8(OH)_6$ stereoisomer mit Mannit	Ernährt Pilze	Tauglich zur Stärkebildung bei Phanerogamen (Blätter von Evonymus europaeus, Kartoffelsprosse) (E. Laurent, A. Meyer)	
Brenzkathechin $C_6H_4 < OH \begin{matrix} 1 \\ 2 \end{matrix}$	Ist keine C-Quelle für Hefe (B. in Dingl. polyt. Journ. Bd. 303)	In 0,1 % sterben Diatomeen und Infusorien schon nach wenigen Minuten ab, Fadenalgen nach einigen Stunden (O. Loew)	Von Versuchen mit grünen Pflanzen ist kaum etwas zu erwarten

Resorcin $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$	Ernährt Hefe nicht (B. in Dingl. polyt. Journ. Bd. 303)	Resorcin ist etwas weniger schädlich, doch sterben Fadenalgen und Diatomeen allmählich in 0,1 % ab	do.
Hydrochinon $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$	Ernährt Hefe nicht, wohl aber Schimmel (B. a. a. O.)	0,1 % Hydrochinon wirkt ebenso wie 0,1 % Brenzkatechin, nur etwas langsamer	do.
Pyrogallol $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_3$	Ernährt Hefe nicht (B. a. a. O.)	In 0,1 % Pyrogallol sterben Infusorien schon nach 1 Minute ab (O. Loew). Für Algen ist es jedenfalls auch giftig	do.
Phloroglucin $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_3$	Ernährt Hefe nicht (B. a. a. O.). Spaltpilz oder sonstige Pilzvegetation wurde auch nicht erhalten (B., Centralbl. f. Bakt. Bd. 30)	Dasselbe ist weniger giftig als Pyrogallol (O. Loew). Trotzdem ergaben Pilze negatives Resultat	Die Phenole sind um so weniger giftig für Hefe, je höher sie hydroxyliert sind (K. Yabe, Coll. of agric. Bull. Tokio. p. 73—75). ?
Gallussäure $\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3 \cdot \text{CO}_2\text{H}$ 1, 3, 4, 5— $\text{CO}_2\text{H}$	Hefe wird nicht ernährt, dagegen in geringem Grade Schimmel. Für Bakterien scheint sie keine Nahrung zu sein (B., Centralbl. f. Bakt.)	Versuche mit grünen Pflanzen wurden nicht angestellt	Die Lösung färbt sich an der Luft braun. Es scheint, daß der Schimmel doch einigen Sauerstoffes sich bemächtigt
Tannin, Digallussäure $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_9 + 2 \text{H}_2\text{O}$	Nahrung für Schimmel. Bakterien und Hefe wachsen in einer Tanninlösung nicht (B., Centralbl. f. Bakt.)	Versuche mit grünen Pflanzen fehlen	Die Lösung färbt sich an der Luft dunkel. Schimmel scheint trotz d. Sauerstoffes an sich zu reißen
Pyrogallussäure $\text{C}_6\text{H}_5(\text{OH})_3$ 1, 2, 3	Ernährt Pilze nicht. Vermutlich ist die starke Sauerstoffabsorption durch diese chemische Substanz an dem negativen Resultat schuld, da die meisten Pilze Sauerstoff brauchen. Vielleicht gelingt die Ernährung mit Bakterien, welche keinen Sauerstoff nötig haben	Versuche mit grünen Pflanzen wohl aussichtslos	
Propylglykol	Wird nach Peré (Ann. Past. Bd. 11. 1897) gespalten durch <i>Pyrothrix tenuis</i> , indem die Linkform rascher zerstört wird		

Im allgemeinen läßt sich bei den Alkoholen wohl der Loew'sche Satz als richtig erkennen, daß mehrwertige Alkohole besser sind als die entsprechenden einwertigen, z. B. Glycerin besser als Propylalkohol.

Ferner der Satz, daß bei einwertigen Alkoholen der Fettreihe, der Nährwert mit der Zahl der steigenden Kohlenstoffatome abnimmt. Methylalkohol ist besser als Amylalkohol (Brown).

#### Aldehyde.

Formaldehyd (Ameisnaldehyd,  $\text{C} \begin{smallmatrix} \nearrow \text{H} \\ \equiv \text{O} \\ \searrow \text{H} \end{smallmatrix}$ ).

Den Ernährungsversuchen mit freiem Formaldehyd steht die Giftigkeit desselben hinderlich im Wege.

Für Bakterien ist derselbe noch in großer Verdünnung schädlich.

Ernährungsversuche mit Formaldehyd als Kohlenstoffquelle gelingen deshalb oft nicht (B., Biochem. Zeitschr. 36. Bd.).

Nur wenn man Salmiak (oder ein sonstiges Ammoniak Salz) als Stickstoffquelle verwendet, erhält man mit Formaldehydlösungen von 1 : 5000, ferner 1 : 10 000 und 1 : 20 000 Bakterienvegetation.

Nach 8 Tagen ist in allen drei Fällen deutliche Bakterientrübung vorhanden, die bei Lösung 1 : 5000 allmählich stärker wird und zu erheblichem Bodensatz führt.

Nach O. Loew tritt in solcher salmiakhaltiger Lösung die Bildung von Hexamethylenamin ein, welches letzteres dann ernährt.

Dieser Forscher erhielt mit Hexamethylenamin an Bakterien positives Resultat; freilich erst nach langer Zeit. Es wuchs eine in größeren Massen rötlich erscheinende Bakterienart.

Die lange Dauer mag vielleicht darin begründet sein, daß Bakterien, die Formaldehyd in dieser Form assimilieren, nur spärlich in der Luft vorhanden sind, so daß es sehr zufällig ist, wenn solche in die Lösung geraten.

Auch bei meinen Versuchen verstrichen 8 Tage, bis die Bakterientrübung eintrat.

Schimmelsporen und Hefepilze hatten jedenfalls auch Zutritt; sie gelangten aber nicht zur Vermehrung.

Man darf wohl annehmen, daß sie den Formaldehyd auch in dieser Form nicht zu assimilieren vermögen.

Meine Versuche an grünen Pflanzen ergaben immer eine große Schädlichkeit dieses Stoffes (Formaldehyd in freiem Zustande).

Abgeschnittene Pflanzenteile, wie Blätter von Sellerie, Schnittlauch, Petersilie usw., wurden mit der Schnittfläche in 0,1 Proz. Formaldehydlösung gebracht.

Es zeigte sich bald eine schädliche Wirkung.

An Spirogyren wurden dann noch stärkere Verdünnungen ausprobiert.

Es zeigte sich sogar bei 1 : 50 000 noch eine schädliche Wirkung, insofern, als keine Kohlensäure-Assimilation stattfand. Die Algen blieben am Boden des Versuchsgefäßes liegen, während die Kontrollalgen aufstiegen.

Indes gelang die Ernährung von Algen mit freiem Formaldehyd doch noch, als ich den Spirogyren gasförmigen Formaldehyd in kleinerer Menge stetig zuführte. Die Spirogyren waren dabei weder



der Gefahr der Vergiftung ausgesetzt, noch mußte die Ernährung infolge zu geringer Zufuhr von Formaldehyd zu den Zellen ohne sichtbaren Erfolg bleiben.

Der Formaldehyddampf wurde mit reinem Wasserstoffgas gemengt zu den Spirogyren geleitet, unter sorgfältigem Kohlensäureausschluß (siehe B. in Biochem. Zeitschr. 36. Bd.). Binnen 3 Tagen zeigten die Algen, die zuerst entstärkt worden waren, reichlichen Stärkeansatz, während sich in der Kontrollflasche keine Neubildung zeigte. Die Formaldehyd-Algen waren auch mikroskopisch sehr schön.

Übrigens konnte ich mich bei weiteren Versuchen davon überzeugen, daß selbst ruhiges Liegen in einer sehr hoch verdünnten 0,001-proz. Formaldehydlösung bei dunkelgestellten Spirogyren schließlich zum Stärkeansatz führt, wenn der Versuch nur lange genug dauert.

Binnen 9 Tagen trat reichlicher Stärkeansatz ein (B., a. a. O. p. 86).

Von Ernährungsversuchen mit freiem Formaldehyd an *Blütenpflanzen* sei nur angeführt, daß einige Experimente unter Glasglockenverschluß gemacht wurden. Der Verschluß wurde mit 30proz. Natronlauge hergestellt, die mit 0,1 bis 10 Proz. Formaldehyd versetzt war; daneben Kontroll-Versuche ohne Formaldehyd. Der Formaldehyd bei den ersteren konnte als Dampf zu den Keimlingen (Kresse-) gelangen.

Es zeigte sich sogar 0,5 Proz.  $\text{CH}_2\text{O}$  enthaltende Lauge als Sperrflüssigkeit noch gefährlich.

Erst beim Zurückgehen auf 0,1 Proz. konnte ich eine unschädliche, ja sogar vorteilhafte Wirkung auf die Keimlinge konstatieren.

Begießungsversuche mit freiem Formaldehyd an Topfpflanzen von *Phaseolus multiflorus*, ferner von *Vicia faba* und einigen anderen Pflanzen wurden monatelang regelmäßig fortgesetzt, doch ohne entschiedenen Erfolg, was wohl zweifellos auf die große Verdünnung des Formaldehyd zurückgeführt werden muß, die infolge der Vergiftungsgefahr eingehalten wurde.

Die Zufuhr von Formaldehyd war im Ganzen so gering (es mußten bei Verdünnung 1:100 000 100 l Wasser zum Begießen eines Topfes verwendet werden, um 1 g Formaldehyd zuzuführen), daß eine Präponderanz gegenüber der Pflanze mit bloßer Kohlensäure-Assimilation nicht auftreten konnte. (B., Biochem. Zeitschr. Bd. 36.)

Die genannten Pflanzen sind infolge ihrer großen Blattfläche auf Kohlensäureassimilation so vortrefflich eingerichtet, daß nur eine ausgiebige organische Ernährung daneben in Betracht kommen kann. Bei untergetauchten Wasserpflanzen wie Spirogyren liegen die Verhältnisse etwas günstiger.

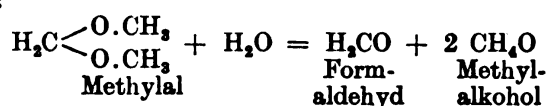
Da ich bei *Phaseolus multiflorus* bemerkte, daß sogar Begießen mit 0,01 Proz. freiem Formaldehyd ertragen wurde, stellte ich einige Wasserkulturen mit dieser Verdünnung an; der Enderfolg nach einigen Monaten war aber kein hervorragender, trotzdem die Formaldehydpflanzen gegenüber den Kontrollpflanzen anfangs einen Vorsprung zu haben schienen. Zwischen Ertragen und Verwenden ist eben doch noch ein Unterschied.

Ernährung mit formaldehydabspaltenden Substanzen.

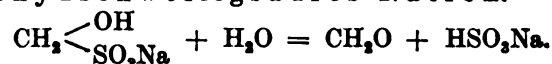
Solche Versuche wurden mit Methylal und mit formaldehydschwefligsaurem Natron auf O. Loews Vorschlag angestellt.

Die Spaltung erfolgt in beiden Fällen unter Wasseraufnahme:

Methylal:



Formaldehydschwefligsaures Natron:



Weil das frei werdende saure schweflige saure Natrium schädlich wirkt, muß zur Neutralisation desselben eine entsprechende Menge von Dikalium- oder Dinatriumphosphat, einer alkalischen Substanz, die jenes in neutrales schwefligsaures Natron überführt, zugesetzt werden. Ohne Dialkaliphosphat gingen mir die Kulturen regelmäßig binnen kurzer Zeit zugrunde.

Schon 1887 (Journ. f. prakt. Chem. Bd. 36.) haben O. Loew und Verf. Versuche mit Methylal an Spirogyren publiziert.

Es wurde zunächst festgestellt, daß Spirogyren in 0,1 Proz. Methylal binnen 3 Wochen im Dunkeln nicht zugrunde gehen und dann ans Licht gebracht normales Aussehen gewinnen und bald frische Stärke ansetzen, während die Kontrollalgen in 3 Tagen schon größtenteils abstarben. Methylal ernährt offenbar.

Vaucheria treibt zahlreiche neue Sprosse, wenn sie auf mehrere Tage in 0,2 Proz. Methylal gebracht wird, während das Wachstum in reinem Wasser nur gering ist. Sogar 1 Proz. Methylal wird von Vaucheria mehrere Tage lang ertragen, während dieselbe Pflanze in einer 0,05proz. Lösung von Formaldehyd bald unter Kontraktion und Zusammenfließen der Chlorophyllkörner abstarb.

Ein 6 cm langer Faden von Spirog. maxima wuchs in 0,1 Proz. Methylal im Dunkeln binnen 4 Tagen auf 8 cm heran, ein gleicher im Quellwasser nur auf 6,9 cm. Der ernährende Einfluß ist ersichtlich.

Stärkebildung aber konnten die genannten Forscher im Dunkeln bei Spirogyra nicht erhalten.

Verf. ging deshalb zu Lichtversuchen bei völligem Kohlensäureaustausch über.

Es stellte sich dann bei zahlreichen Versuchen heraus, daß die Chlorophyllkörper bei Lichtzutritt aus Methylal Stärke zu bilden vermögen.

Die Algen spalten vermutlich zuerst das Methylalmolekül und verwenden dann sowohl den freigewordenen Formaldehyd wie auch den Methylalkohol zur Assimilation.

Versuche mit Methylal und grünen Blütenpflanzen ergaben dem Verf. zunächst keinen zweifellosen Erfolg, später aber sehr deutlichen positiven Ausschlag, als die Versuchszeit monatelang ausgedehnt wurde.

Kohl (Wirsing), Weizen, Bohnen zeigten sich mit Methylal ernährbar, als sie als Topfpflanzen 3 Monate lang mit 2proz. Methylallösungen (unter Zusatz von etwas Mineralsalz) begossen wurden.

Pilze können Methylal nur schwierig assimilieren.

In 1proz. Methylallösung wachsen Bakterien und Mikrokokken, aber nur langsam.

Formaldehyd-schwefligsaures Natron wurde von O. Loew bei Pilzen als C-Quelle erkannt. Eine 0,25proz. Lösung (mit Mineralsalzen) an der Luft offen stehen gelassen, erzeugt nach 1—2 Wochen Bakterientrübung, welche sich allmählich zu häutigen Flocken von schwach

rötlicher Färbung weiter entwickelt (O. L. über einen Bacillus welcher Ameisensäure und Formaldehyd assimilieren kann, Centralbl. f. Bakt. 1892. No. 14.). Die Erscheinung ist stets die gleiche, ob nun Luftbakterien allein hineingelangen, oder Bakterien aus Methylalkoholkulturen oder faulender Peptonlösung hineingetan werden, im zerstreuten Tageslicht wie im Dunkeln.

Es drängt sich der Gedanke auf, daß von den vielen hineingeratenen Spaltpilzarten immer nur eine sich entwickelt (unter dem Mikroskop stets die gleichen kurzen dicken Stäbchen).

„Offenbar ist diese Formaldehydverbindung ein schlechter Nährstoff für Pilze, weit weniger günstig als die nahestehenden Körper Methylalkohol, Methylamin oder Methylecyanid.“

Daß formaldehydschwefligsaures Natron von Spirogyren verwendet wird, zeigten mir zunächst quantitative Versuche über das Verschwinden des Formaldehydes aus Nährlösungen, in die jene Algen verbracht wurden.

Die Titration ergab, daß 10 g Algen binnen 10 Tagen bis zu 115 mg des Stoffes verbrauchen (B. im Arch. d. Hyg. 1829. p. 205.).

Er wird aber nicht etwa bloß als Atemmaterial gebraucht, sondern auch zur Stoffbildung verwendet.

Denn Spirogyren setzen Stärke an (unter Durchleiten von reinem Wasserstoffgas) wenn sie am Lichte in der Lösung liegen gelassen werden. Binnen 3 Tagen sammelt sich in den vorher entstärkt gewesenen Spirogyren ein sehr beträchtlicher Stärkegehalt an.

Da bei diesem Versuche die Luft ausgeschlossen war, indem ausgekochtes Wasser und Wasserstoffdurchleitung angewendet wurde, so ergibt sich aus demselben zugleich, daß zur Ernährung mit formaldehydschwefligsaurem Natron Sauerstoff nicht nötig sei (B. in Pflug. Arch. Bd. 125. 1908.).

Mit grünen Blütenpflanzen und formaldehydschwefligsaurem Natron konnten bis jetzt noch keine sicheren positiven Resultate erhalten werden.

Aethylaldehyd ( $\text{CH}_3, \text{COH}$ ).

Auch der Aethylaldehyd ist ein nicht unbeträchtliches Gift für Algen.

In einer 0,02proz. Auflösung desselben sterben Cladophoren, Vaucherien und Konferven binnen 24 Stunden ab (desgleichen Infusorien).

Doch zeigten mir Versuche an grünen Blütenpflanzen, daß der Aethylaldehyd nicht ganz aussichtslos sei.

In Aethylaldehyd von 0,1 Proz. + 0,25 Proz. Monokaliphosphat zeigte eine Wasserkultur von *Phaseolus multiflorus* nach 5 Tagen reichlich Stärke in der Wurzel, ziemlich viel im unteren Stengelteil, keine in den oberen Stengelpartien!

Eine Kontrollpflanze, die im Brunnenwasser ebenso lang gezogen wurde, zeigte keine Stärke. (B. in Chem.-Ztg. 1894. No. 2.).

Für Hefe ist der Aethylaldehyd wegen seiner Giftigkeit kaum zu brauchen.

In einer 0,1proz. Aldehydlösung wächst nicht einmal eine Spaltpilz- oder Schimmelvegetation.

Dagegen trat in einer Nährlösung, welche 0,01 Proz. Aethylaldehyd als einzige Kohlenstoffquelle enthielt, nach 8 Tagen eine Trübung durch Spaltpilze ein.

Bei Verdünnung 0,02 Proz. stellten sich etwas später Schimmelpilze ein, welche als Rasen in der Flüssigkeit schwammen und an der Wand festsaßen.

Bei 0,1 Proz. trat lange keine Pilzvegetation ein.

Erst als die Flüssigkeit durch Oxydation eines beträchtlichen Teiles des Aldehyds teilweise zu Essigsäure geworden war, stellte sich nach 20 Tagen eine Schimmelvegetation ein, welche bald sehr mächtig wurde.

Somit müssen wir den Aethylaldehyd als einen wegen seiner Giftigkeit zur Ernährung wenig geeigneten Stoff bezeichnen.

Immerhin lassen sich Verdünnungen und Bedingungen finden, bei denen wenigstens gewisse Bakterien und Schimmelpilze wachsen.

Ich bereitete mir drei Lösungen: a) 0,1 Proz., b) 0,02 Proz., c) 0,01 Proz. Aethylaldehyd.

Alle drei Lösungen wurden mit den nötigen Mineralstoffen versehen und mit pilzhaltiger Flüssigkeit geimpft.

Bei a) war nach 14 Tagen noch keinerlei Pilzbildung zu bemerken. Nach 3 Wochen zeigten sich Schimmelflocken (*Penicillium*). Die Flüssigkeit reagierte nur schwach sauer. Nach 3 Wochen war ein mächtiger Bodensatz da, bestehend aus *Penicillium*. Wahrscheinlich war hier zunächst eine Oxydation zu Essigsäure eingetreten und hatten sich die Schimmelpilze von dieser ernährt. Bakterien traten nicht auf.

Die Ernährung darf hier wahrscheinlich nicht auf Aethylaldehyd sondern auf Essigsäure bezogen werden.

In Lösung b) zeigten sich schon nach 12 Tagen Fadenpilze (*Penicillium*), welche in der Flüssigkeit schwammen oder an den Wänden fest saßen. Außer *Penicillium* waren hier aber auch zahlreiche Spaltpilze anwesend.

Bei dieser Verdünnung scheint also Aethylaldehyd nicht mehr zu giftig für Bakterien zu sein, und scheint auch die auftretende saure Reaktion nicht mehr stark genug zu sein, um das Wachstum der Bakterien zu hindern.

Die Vegetation dürfte hier wohl zum Teil auf den Aethylaldehyd selbst zu beziehen sein.

Bei Lösung c) trat nach 9 Tagen eine Trübung auf, herrührend von Bakterien, welche binnen weiteren 2 Tagen sehr stark trüb wurde.

Eine Plattenkultur der in Flüssigkeit c) befindlichen Pilze ergab zweierlei Spaltpilze; erstens solche, die Gelatine verflüssigen und wolkig am Boden der Platten liegen, zweitens solche, welche Gelatine nicht verflüssigen, runden bis ovalen Umriß haben und von schwach gelblich brauner Farbe sind. Beide bestanden aus Kurzstäbchen, in letzterem Falle sehr lebhaft beweglichen.

Paraldehyd ( $C_2H_4O_3$ ).

Diese Substanz ergab auch ein negatives Resultat.

Ich stellte Lösungen von 1:500, 1:5000, 1:20 000 und 1:50 000 her und brachte in dieselben entstärkte *Spirgyra maxima*.

Nach 25stündigem Stehen im Lichte bei Kohlensäureausschluß waren sämtliche Versuchs algen zugrunde gegangen unter Bleichung.

Selbstverständlich hatte auch kein Stärkeansatz stattgefunden (B. i. Chem.-Ztg. 1894. No. 2.).

Algen und Pilze werden von Paraldehyd schon bei der Verdünnung 0,002 Proz. binnen 24 Stunden getötet (B. i. Pflug. Arch. Bd. 66.).

Eine ernährende Wirkung ist also von diesem Stoff nicht zu erwarten.

Benzaldehyd (Bittermandelöl)  $C_6H_5\cdot CHO$ .

Er ist nach Kitasato und Weyl ein starkes Gift für anaerobe Spaltpilze.

Versuche über Ernährungsfähigkeit liegen nicht vor, sie würden auch kaum Aussicht auf Erfolg haben.

Oxybenzaldehyd  $C_6H_4(OH).COH$ .

Derselbe lag mir als Ortho- und Para-Verbindung vor, ersterer eine Flüssigkeit von ziemlich starkem bittermandelölähnlichem Geruch, letzterer ein weißes Pulver.

Die 0,1proz. Lösungen der beiden Substanzen wirken schädlich auf andere Organismen ein, aber die Orthoverbindung viel mehr als die Paraverbindung.

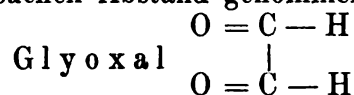
In ersterer sterben Algen und Infusorien binnen 12 Stunden ab, in letzterer bleibt eine Anzahl Spirogyren am Leben, wenn auch schon krankhafte Veränderungen, wie Verschiebung der Chlorophyllbänder, der Kerne usw. sich zeigen.

Paraoxybenzaldehyd erwies sich (Dingl. polyt. Journ. Bd. 303.) als Kohlenstoffquelle für Schimmel, nicht für Hefe (in 0,1proz. mit Nährsalzen und einer Spur Hefe versehener Lösung).

Binnen drei Wochen war ein mächtiger Schimmelrasen in der Lösung gewachsen (B. in Dingl. polyt. Journ. Bd. 303.).

Mit der Orthoverbindung stellte ich wegen deren größerer Giftigkeit keine Versuche über Pilzernährung an.

Ortho- und Paranitrobenzaldehyd,  $C_6H_4(NO_2).COH$  erwiesen sich bei den Vorversuchen ebenfalls so schädlich, daß von Ernährungsversuchen Abstand genommen werden mußte.



Diese Substanz ist, wie O. Loew hervorhebt (Centralbl. f. Bakt. 1892. No. 11/12.) nicht giftig und doch auch keine Nährsubstanz für Pilze...

In einer 0,5proz. mit 0,05 Proz.  $HK_2PO_4$  + 0,05 Proz.  $H(NH_4)_2PO_4$  + 0,01 Proz.  $MgSO_4$  versetzten Lösung, welche wegen saurer Reaktion noch mit etwas Soda (bis zur Neutralisation) versetzt worden war, wuchs trotz Infektion aus fauliger Peptonlösung binnen zwei Wochen bei 15—18° im Dunkeln keine Bakterienvegetation. Nur etwas Schimmel entwickelte sich.

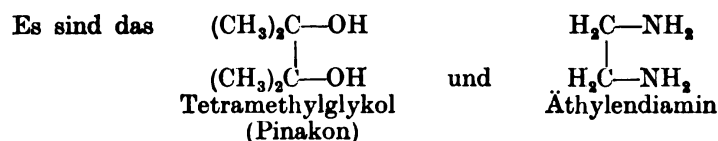
Als nun 0,2 Proz. Pepton zugesetzt wurde, entstand schon nach 2 Tagen lebhaftere Bakterientrübung.

Auch der *Bacillus methylicus*, ein sehr energisch wirkender Pilz, entwickelte sich binnen mehrerer Wochen nicht im geringsten, als an einer zweiten Lösung von voriger Art die Infektion vorgenommen wurde.

Glyoxal ist offenbar nicht oder kaum geeignet zur Pilzernährung.

An grünen Pflanzen liegen keine Versuche vor.

Neben dem Glyoxal wurden von O. Loew noch zwei andere organische Körper gefunden, welche zur Ernährung ganz untauglich sind, dabei aber gar keinen Giftcharakter besitzen.



Bei gleichen Versuchen, wie vorhin bei Glyoxal angegeben, ergaben dieselben ebenfalls negatives Resultat.

Geringe Oxydierbarkeit soll beim Pinakon daran schuld sein.

Bestimmte Atomstellung beim Glyoxal.

„Offenbar müssen bei der Eiweißbildung aus verschiedenem Material zunächst bestimmte Atomgruppen (CHOH) durch oxydative und spaltende

Namen der Substanz Chemische Formel	Nährkraft bei Pilzen	Nährkraft bei grünen Pflanzen	Bemerkungen
Aldehyde: Formaldehyd $\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{C} < \text{O} \\   \\ \text{H} \end{array}$	Ernährungsversuche mit $\text{CH}_2\text{O}$ als einziger C-Quelle mißlingen bei Pilzen. Nur wenn man Salmiak (oder sonst Ammoniak) als N-Quelle verwendet, stellt sich — freilich erst nach längerer Zeit — Bakterienvegetation ein (infolge von Hexamethylenamin-Bildung nach O. Loew). Schimmel- oder Hefewachstum wurde nie beobachtet. Die Umwandlung des Formaldehyds in Kohlehydrat gelingt sogar bei rein chemischen Versuchen, indem derselbe bei Berührung mit gewissen Metallhydroxyden zu Traubenzucker- und anderen Zuckern kondensiert wird (O. Loew). Andere Umwandlungen wiederum gelingen dem Chemiker nicht, die in der lebenden Zelle scheinbar leicht vor sich gehen	Spirogyren setzen in 0,001 % Formaldehyd bei langer Versuchsdauer im Dunkeln Stärke an, ebenso bei länger fortgesetzter Zufuhr von $\text{CH}_2\text{O}$ -Dämpfen unter $\text{CO}_2$ -Ausschluß und Lichtzutritt (B. in Biochem. Zeitschr. Bd. 36). Mit Phaseolus multiflorus-Tropfpflanzen, ebenso mit Vicia faba ergaben Begießungsversuche keinen unterschiedenen Erfolg, weil eine zu große Verdünnung angewendet werden mußte infolge der Giftigkeit des Formaldehydes. Es wurde zunächst mit 0,001 % gegossen. Da Phaseolus multiflorus aber noch 0,01 % freien Formaldehyd zu ertragen schien, so wurden Wasserkulturen mit dieser Konzentration des Formaldehydes angesetzt. Anfangs stellte sich ein Vorsprung gegenüber den Kontrollpflanzen ein, der Enderfolg war aber nicht deutlich günstig	Die Giftigkeit dieses Stoffes ist bei Ernährungsversuchen sehr hinderlich. Trotzdem gelangen sie in einzelnen Fällen bei genügender Vorsicht.  Formaldehydversuche sind physiologisch von besonderem Interesse, weil $\text{CH}_2\text{O}$ vermutlich ein Zwischenglied bei der Kohlenhydrat-, wie auch bei der Eiweißbildung in Pflanzen aus einfacheren organischen Stoffen darstellt (A. Baeyer, Theorie der Kohlensäureassimilation; O. Loew, Theorie der Eiweißbildung)
Formaldehydschwefligsaures Natrium $\begin{array}{c} \text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{SO}_3\text{Na} \end{array}$	Es scheint wenige Pilze zu geben, welche diesen Stoff als C-Quelle verwenden können. Meine Versuche schlugen stets fehl. O. Loew erhielt immer erst nach langer Zeit Spaltpilzvegetation und zwar immer von derselben Art, eine in großen Massen rötlich erscheinende Art. Denselben Spaltpilz erhielt er merkwürdigerweise auch bei Ernährung mit ameisen-saurem Natrium. (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1892. No. 14)	Spirogyren ernähren sich davon und bilden Stärke. Das gelingt auch im Dunkeln. Bei Lichtzutritt geht aber die Ernährung mit diesem Stoff rascher vor sich. Man macht hier dieselbe Erfahrung wie mit vielen anderen zur Stärkebildung in Spirogyren verwendbaren organischen Stoffen, die im Lichte leichter zu Stärke werden als bei Lichtausschluß	Spaltet sich nach folgender Gleichung: $\begin{array}{c} \text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{SO}_3\text{Na} \end{array} = \text{CH}_2\text{O} + \text{HSO}_3\text{Na}$ Das freigesetzte $\text{HSO}_3\text{Na}$ muß mit etwas Dialkylphosphat bei Ernährungsversuchen unschädlich gemacht werden. Sonst mißlingen die Versuche regelmäßig, weil ein Absterben der Versuchspflanzen eintritt
Methylal $\begin{array}{c} \text{O} \cdot \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_2 < \text{O} \cdot \text{CH}_3 \end{array}$	In 1-proz. Methylallösung wachsen Bakterien und Mikrokokken, aber nur langsam.	0,1—0,2 % ernährt Algen (Loew u. B., J. pr. Ch. Bd. 36). 0,2 % ernährt Weizen, Roggen, Kohl (B.	Spaltung des Methylal nach der Gleichung:

Auch hier bemerken wir, daß die Substanz von Pilzen schwieriger bewältigt wird als von grünen Pflanzen

Biochem. Zeitschr. 1915). Bohnen desgl. (Landw. Jahrb. 1892), 0,1 % bewirkt Stärkeansatz in entstärkten Spirogyren, bei Kohlensäureausschluß und Lichtzutritt. Für Cladospora ist Methylal ziemlich giftig. Bei Erbsen ist 0,2 % etwas zu stark (auch bei Topfpflanzen). Die Begießung der Topfpflanzen ist monatelang fortzusetzen, um größere Ausschläge zu erhalten



Name der Substanz, Chemische Formel	Nährkraft bei Pilzen	Nährkraft bei Algen und höheren grünen Pflanzen	Bemerkungen
Äthylaldehyd $\text{CH}_3 \cdot \text{COOH}$	Giftig. Erst bei 0,01 % oder 0,02 % wachsen Bakterien, bzw. Schimmelpilze	Für Algen ein nicht unbeträchtliches Gift, selbst bei 0,02 % sterben sie binnen 24 Stunden ab. Phaseolus multiflorus erträgt 0,1 % und gedeiht darin. B. in Chem. Ztg. 1894. No. 2	Der Nährfähigkeit steht hier (ähnlich wie bei Formaldehyd) hauptsächlich die Giftigkeit im Wege
Paraldehyd $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_3$	Schon 0,002 % tötet Pilze binnen 24 Stunden. B., Pflüg. Arch. Bd. 66	0,2 bis 0,002 % ist für Algen giftig, so daß kein Stärkeansatz erfolgen kann	Bei der Giftigkeit dieses Stoffes ist eine ernährende Wirkung nicht zu erwarten
Benzaldehyd (Bittermandelöl) $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{COH}$	Ist nach Kitasato u. Weyl ein starkes Gift für anaérobe Spaltpilze (wohl auch für andere B.). Eine ernährende Wirkung ist nicht zu erwarten	Ernährungsversuche liegen nicht vor	
Oxybenzaldehyd (Para-) $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH}) \cdot \text{COH}$	Ist etwas schädlich für niedrigere Organismen. Trotzdem wuchs in 0,1-proz. Lösung ein mächtiger Schimmelpilz (B. in Dingl. polyt. Journ. Bd. 303)	Versuche fehlen	
Oxybenzaldehyd (Ortho-) $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH}) \cdot \text{COH}$	Sehr giftig. Keine Ernährungswirkung	Versuche über Ernährung wurden nicht gemacht	
Glyoxal $\text{O} = \text{C} - \text{H}$ $\text{O} = \text{C} - \text{H}$	Für Pilze keine oder kaum eine Nahrung (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1892. No. 11/12)	Versuche über Ernährung grüner Pflanzen fehlen, dürften auch kaum Aussicht auf Erfolg haben.	



Tätigkeit entstehen (in einzelnen Fällen auch durch reduzierende), ehe die Eiweißbildung beginnen kann.“

### Allgemeines über Aldehyde.

Bei Aldehyden hat man, wenn man Ernährungsversuche anstellen will, meist mit dem giftigen Charakter derselben zu kämpfen.

Häufig sind sie noch bei sehr großen Verdünnungen giftig.

Ganz besonders ist das bei dem Formaldehyd der Fall, der ja deswegen auch in der Praxis vielfach als ein Desinfektionsmittel gebraucht wird.

Trotzdem ist es gelungen, gerade mit diesem Stoffe ein positives Resultat zu erzielen.

Es wurden zu diesem Zwecke einerseits Verdünnungen von 0,001 % angewendet, andererseits leicht spaltbare wenig giftige Verbindungen, welche bei der Spaltung in den Zellen Formaldehyd freigegeben mußten, gebraucht.

Vom Verf. wurde dem Formaldehyd hauptsächlich aus dem Grunde besondere Aufmerksamkeit zugewendet, weil derselbe das hypothetische Zwischenglied bei der Kohlensäureassimilation ist (A. v. B a e y e r).

Wir haben ja auch in dem Formaldehyd eine Substanz von der idealen Zusammensetzung  $\text{CH}_2\text{O}$  vor uns, deren Bildung nach aller Berechnung der Eiweißsynthese, nicht bloß der Kohlehydratsynthese vorausgehen muß.

Es wäre höchst mißlich für alle bisherige Spekulation, wenn sich unter keinen Umständen ein positives Resultat mit Formaldehyd erhalten ließe.

Der schließliche Erfolg läßt aber nicht bloß die Formaldehydhypothese wiederum wahrscheinlicher erscheinen, sondern auch die Hoffnung aufkommen, daß noch mit andern bisher versagenden Stoffen ein positives Resultat erhalten wird.

### Ketone, Ester.

#### Aceton $\text{CH}_3\text{CO}\cdot\text{CH}_3$ .

Es ist nach O. Loew zur Kohlenstoffernährung für Bakterien tauglich (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1892. No. 11/12).

Eine 0,5 proz. mit fauliger Peptonlösung infizierte Acetonlösung wurde bei 15—18° in einem dunklen Schrank stehen gelassen, neben verschiedenen Kontrollösungen.

Für neutrale Reaktion wurde gesorgt.

Schon nach 4 Tagen war Trübung zu bemerken.

Versuche mit grünen Pflanzen liegen nicht vor.

#### Acetessigester $\text{CH}_3\text{CO}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}_2\cdot\text{C}_2\text{H}_5$ .

Mit demselben erhält man bei Algen ein positives Resultat, wenn man die Lösung sehr verdünnt anwendet.

Nach 24 stündigem Aufenthalt in einer 0,02 proz. Lösung (bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß) zeigte *Spirogyra setiformis*, die vorher entstärkt worden war, ziemlich erheblichen Stärkeansatz, während die Kontrollalgen stärkefrei waren (B., Chem. Ztg. 1894. No. 2).

Nach O. Loew ist der Acetessigester eine Kohlenstoffernährung für Pilze (Centralbl. f. Bakt. 1892. p. 361).

Diese Substanz heißt eigentlich Acetessigsäureäthylester und ist als Verbindung der Acetylessigsäure  $\text{CH}_3\text{CO}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}_2\text{H}$  mit Älythalkohol aufzufassen. Wegen der CO-Gruppe ist erstere eine Ketonsäure.

Ihre Nährkraft ist aus dieser Zusammenstzung zu erklären.

Die Pilze und Algen vermögen offenbar diese Substanz in ihre Komponenten zu spalten und die Spaltungsprodukte zu assimilieren.



Die spärlichen Veröffentlichungen über diese Art von Stoffen lassen erkennen, daß auf diesem Gebiete noch positive Resultate zu erhoffen sind.

Versuche hierüber sind beabsichtigt.

Nachdem die beiden einzigen Vertreter der Ketone und der Ester, die geprüft wurden, positives Resultat ergeben haben, ist wohl auch sonst noch manches Nährresultat hier zu erhalten.

Name und Formel der Substanz	Nährkraft bei Pilzen	Nährkraft bei grünen Pflanzen	Bemerkungen
Ketone u. Ester			
Aceton $\text{CH}_3\cdot\text{CO}\cdot\text{CH}_3$	Aceton ernährt Bakterien	Nährkraft bei grünen Pflanzen nicht geprüft	
Acetessigester $\text{CH}_3\text{CO}$   $\text{CH}_2\cdot\text{CO}_2\cdot\text{C}_2\text{H}_5$	C-Nahrung für Pilze	Algen ergaben ein positives Resultat	

### Organische Säuren.

Unter organischen Säuren besitzt die Ameisensäure das einfachste Molekül.

Sie hat die Formel  $\text{H}\cdot\text{CO}\cdot\text{OH}$  und steht der Kohlensäure sehr nahe, welcher die Formel  $\text{HO}\cdot\text{CO}\cdot\text{OH}$  zukommt.

Da die Kohlensäure von den Pilzen meist nicht assimiliert werden kann, wohl aber von grünen Pflanzen unter Mitwirkung des Lichtes, so ist es von besonderem physiologischen Interesse, das Verhalten der Ameisensäure gegen Pilze zu erforschen.

Ameisensäure,  $\text{H}\cdot\text{CO}\cdot\text{OH}$ .

Mit 0,1proz. Lösung von ameisen-saurem Ammoniak, welcher die nötigen Mineralsalze zugesetzt waren, erhielt v. Naegeli keine Pilzvegetation.

Die Lösung blieb unverändert, sowohl im Brutkasten als bei Zimmertemperatur.

O. Loew (Centralbl. f. Bakt. 1892. No. 14.) gelang es auf ameisen-saurem Natron einen eigenartigen *Bacillus* zu ziehen, den er genauer beschrieb.

Nach einigen Versuchen mit gewöhnlicher Ameisensäure, die positiv ausfielen, verschaffte sich der genannte Forscher die denkbar reinste Ameisensäure; aber auch hier wurde das gleiche Resultat erhalten (nach Umwandlung in das Natronsalz).

Die Kulturen standen stets bei 16—18° im Dunkeln.

Immer kamen die dünnen Häute, welche bei Faltungen und flockiger Zusammenziehung rötliche Farbe erkennen ließen und aus kurzen dicken Stäbchen von 1 $\mu$  Breite und 2—2,5  $\mu$  Länge bestanden.

In sterilisierte Methylalkohollösung (0,5 Proz.  $\text{CH}_3\text{OH}$  + 0,05 Proz.  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  + 0,05 Proz.  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  + 0,01 Proz.  $\text{MgSO}_4$ ) geimpft entwickelten sich wieder die rötlichen Häutchen, während in analogen Lösungen von phosphorsaurem Methylamin oder von Kreatin die Bazillen weißliche Massen bildeten, die nicht sofort zu Häuten zusammenhingen, im Übrigen aber jene Dimensionen beibehielten.

Eine grünliche Fluoreszenz, wie sie von mancherlei Bazillen in Nährlösungen von Kreatin und fast aller Amidosäuren hervorgebracht wird, bringt unser *Bacillus* nicht hervor.

Die roten Häute, welche in der Nährlösung von Ameisensaurem Natron gewachsen waren, wurden mit sterilisiertem Wasser mehrmals gewaschen, dann mit etwas sterilisierter Nährgelatine geschildert und nach Verdünnung auf Platten gegossen.

Nach 2 Tagen waren viele Kolonien entwickelt, nach 3 Tagen zeigte sich eine langsam beginnende Verflüssigung der Gelatine.

Bei hundertfacher Vergrößerung erschienen die Kolonien rund und oval, gelblich gefärbt, anfangs scharf begrenzt.

Mit Beginn der Verflüssigung zerfasert sich der Rand und in der Peripherie der langsam sich ausbreitenden verflüssigenden Zone erscheint ein Kranz radiär gestellter feinsten Fäserchen.

Wenn die Verflüssigung etwas rascher fortschreitet, sind die Kolonien denen der Kochschen Kommabazillen ähnlich. Auch finden sich Kommas neben den Stäbchen, dagegen keine Spiralen vor. Die ganze Platte machte den Eindruck einer Reinkultur.

Die weitere Kultur ergab Folgendes:

In neutraler Fleischwasserpeptongelatine zeigt die Stichkultur nach 1 Tag schleierartiges Wachstum im Verlauf des Impfstiches, am 3. Tag hat sie das Ansehen wie eine Kultur von Kochschen Kommabazillen. Es zeigt sich ein verflüssigender Krater in Kirschkernegröße, auf dessen Grund sich ein weißliches bis schwach gelbliches Sediment befindet.

In zuckerhaltiger (2proz.) Gelatine macht sich bei der Stichkultur nach 1 Tag eine stecknadelkopfgröße Verflüssigung bemerkbar, während im Verlauf des Impfstiches nur Spuren von Wachstum zu erkennen sind (bei 16° C). Am 3. Tag hat sich die verflüssigte Partie bis höchstens Erbsengröße ausgedehnt, im Verlauf des Stiches ist deutliches Wachstum aber noch keine Verflüssigung bemerklich.

Auf der Kartoffel wächst diese Bakterienart sehr langsam. Erst am 2. Tage (bei 16°) ist ein deutlicher sehr dünner Belag, in bezug auf dicke dem der Typhusbazillen-Kartoffelkultur gleich, zu bemerken. Dieser Belag haftet fest auf der Kartoffelkultur, ist rein weiß.

Bei höherer Temperatur scheint der *Bacillus* weniger gut zu gedeihen.

In Bouillonkultur wächst der *Bacillus* ziemlich charakteristisch, ähnlich dem Milzbrandbacillus.

Der *Bacillus* ist offenbar ein exquisiter Aërob.

Er wird von dem Entdecker *Bacillus methylicus* genannt, da er in Derivaten des Methylalkohols (Ameisensäure, Methylaldehyd (formaldehydschwefligsaurem Natron) gut wächst und durch Assimilation der Ameisensäure ausgezeichnet ist.

In chemischer Hinsicht interessiert der *Bacillus* hauptsächlich durch sein Vermögen Ameisensäure zu assimilieren, welche Säure neben Oxalsäure der Kohlensäure bekanntlich am nächsten von allen organischen Säuren steht.

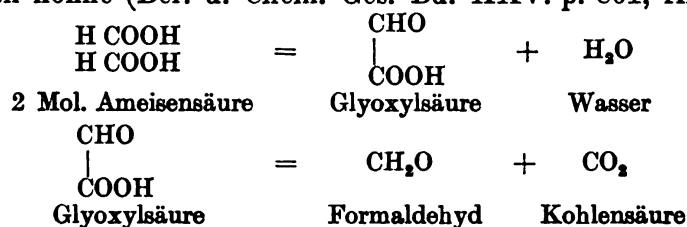
Durch dieses große synthetische Vermögen erinnert er an den Kohlensäure assimilierenden Pilz *Nitromonas* von H ü p p e und W i n o g r a d s k y.

Wie ist die Assimilation der Ameisensäure zu erklären?

„Ist meine Theorie der Eiweißbildung richtig, so müssen wir auch folgern, daß ein einfacher Weg von der Ameisensäure zum Formaldehyd existieren

müsse. Der denkbar einfachste Weg ist der, daß 2 Moleküle Ameisensäure zunächst zu Glyoxylsäure kondensiert werden und diese in Formaldehyd und Kohlensäure gespalten wird.

W. Koenigs hat vor kurzem schon die Ansicht geäußert, daß in grünen Pflanzen Glyoxylsäure durch Kondensation zweier Ameisenmoleküle entstehen könne (Ber. d. Chem. Ges. Bd. XXV. p. 801, Anm.).



Nach Thiele ([Dissert.] Leipzig 1896) verwendet auch *Penicillium*, ferner *Aspergillus* die Ameisensäure als Kohlenstoffquelle.

Essigsäure ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ).

Mit Essigsäure erhielt Naegeli positives Resultat.

In einer Lösung, welche 0,4 Proz. essigsaures Ammoniak und 1 Proz. essigsaures Natron, außerdem die nötigen Mineralsalze enthielt, wuchsen Anfangs kleine Schimmelrasen an der Oberfläche; dann zahllose Spaltpilze, die Flüssigkeit trübend und eine Decke bildend (a. a. O. p. 307).

Der Kontrollversuch, in welchem das essigsaure Ammoniak weggelassen war, gab nur ein äußerst dünnes Häutchen aus winzigen Spaltpilzen (*Micrococcus*) und spärlichen Monaden bestehend.

Als die Lösung, welche 0,4 Proz. essigsaures Ammoniak und 1 Proz. essigsaures Natron enthielt, mit Phosphorsäure angesäuert wurde, wuchsen ziemlich reichlich Schimmel- und Sproßpilze.

Beim Ansäuern einer neuen Lösung derselben Art mit 1 Proz. Essigsäure stellte sich eine starke Schimmeldecke ein.

Man sieht, wie die Art des begünstigten Pilzes, der schließlich das Nährsubstrat fast allein genießt, von einem äußeren Umstand, der sauren Reaktion, abhängig ist.

Auch an Algen erweist sich die Essigsäure als C-Quelle.

Vollständig ausgehungerte, aber noch ganz gesunde Spirogyren wurden in eine Auflösung von 0,1 Proz. essigsaurem Kalk (freie Essigsäure würde durch Acidität schaden), hergestellt durch Neutralisation von Essigsäure mit Kalkwasser, gebracht, und 3 Tage lang bei niedriger Temperatur dem zerstreuten Tageslichte unter Ausschluß von Kohlensäure ausgesetzt.

Am dritten Tage war die Kultur wunderschön; die Fäden hatten sich in der Flüssigkeit gleichmäßig ausgebreitet, was nur bei guter Ernährung eintritt; die Fäden scheinen sich, gut ernährt, abzustoßen und schreiten nie zur Kneuelbildung.

Unter dem Mikroskop zeigten die Fäden deutlichen Stärkeansatz in allen Zellen.

Auch nach 15tägigem Aufenthalt in kohlensäurefreiem Raume war die Kultur noch ebenso schön; bei mangelnder Ernährung wäre sie längst zugrunde gegangen.

Ein gleichzeitig aufgestellter Kontrollversuch (in demselben Exsiccator, dessen Boden mit starker Kalilauge bedeckt war) zeigte am dritten Tage keine Spur von Stärkeansatz.

Eine Wiederholung des Versuches ergab dasselbe Resultat.

Da in beiden Fällen keine Spaltpilze auftraten, so kann man mit Sicherheit annehmen, daß die Stärkebildung auf die Essigsäure zurückzuführen sei, nicht etwa auf Kohlensäure, welche durch Pilze produziert wurde.

Da die Essigsäure bei der Fäulnis in beträchtlicher Menge produziert, so gewinnt die Assimilation derselben durch grüne Pflanzen erhöhte Bedeutung.

Man darf wohl annehmen, daß die Essigsäure auch von höheren Pflanzen, Kulturpflanzen, als Nahrung genommen wird, vorher eine Neutralisation mit Kalk natürlich vorausgesetzt.

Oxalsäure,  $\text{COOH} \cdot \text{COOH}$ .

Nach O. Loew (Giftwirkungen, p. 123) entwickelt eine Nährlösung, welche 0,05 Proz. Dikaliumphosphat und Magnesiumsulfat, ferner 0,5 Proz. neutrales Kaliumoxalat enthält, binnen 2 Tagen bei 30° nach Infektion, aus faulem Fleisch-Wasser eine dichte Bakterienvegetation, meist aus lebhaft sich bewegendem dicken Stäbchen bestehend.

Eine 0,5-proz. Lösung käuflichen Peptons, der noch 0,5 Proz. neutrales Kaliumoxalat zugesetzt war, entwickelte nach 6 Tagen eine ebenso intensive Bakterienvegetation wie eine Kontrollösung ohne das Oxalat; der faulige Geruch war ebenfalls in beiden Lösungen gleich.

Wird Sproßhefe 24 Stunden lang mit einer 2-proz. Lösung von neutralem Kaliumoxalat unter häufigem Umschütteln in Kontakt gelassen, so bringt sie nachher, in eine 5-proz. Glukoselösung gebracht, noch eine ebenso intensive Gärung wie die Kontrollprobe hervor, die in bloßem Wasser verweilt hatte.

Werden zu einer in lebhafter alkoholischer Gärung befindlichen Zuckerlösung 4 Proz. oxalsaures Kali gesetzt, so wird der Vorgang anscheinend nicht im Geringsten verlangsamt.

Daraus geht hervor, das oxalsaures Kali selbst in hohen Konzentrationen das Gärferment nicht beschädigt.

Aus ersterem Versuch ist zu ersehen, das oxalsaures Kali bei geeigneter Verdünnung sogar als Kohlenstoffquelle dient für Bakterien.

Sogar freie Oxalsäure schadet den Spalt- und Sproßpilzen nicht mehr wie freie Weinsäure. Kulturhefe wird durch 2,8 Proz. Oxalsäure binnen 1 Stunde 3 Minuten nicht getötet (Henneberg).

Somit steht der Verwendung der Oxalsäure zur Pilznährung nichts im Wege.

Freilich dürfen die Konzentrationen bei Ernährungsversuchen nicht zu hoch sein.

Naegeli und Loew erhielten bei Versuchen mit 0,3 Proz. oxalsaurem Ammoniak (mineralischen Nährsalzen) keine Pilzbildung.

Ebenso wenig bei 1 Proz. oxalsaurem Ammoniak + 1 Proz. Oxalsäure + mineralischen Nährsalzen (a. a. O. p. 430).

A. Stutzer prüfte die Oxalsäure auf ihre Ernährungskraft bei Phanerogamen.

Derselbe fand, daß Keimpflanzen von *Brassica rapa*, wenn sie in einen Brei von oxalsaurem Kalk, Nobbacher (rein mineralischer) Nährlösung und Quarzsand eingesetzt, dann mit einer Glasglocke bedeckt und so der Kohlensäurezufuhr von außen beraubt werden, am Licht eine sehr bedeutende Trockensubstanzvermehrung erfahren (Bot. Ztg. 1877. p. 222).

Das günstigste Resultat ergab weinsaurer Kalk; er bewirkte Trockensubstanzvermehrung, gleichgültig, ob ein Gefäß mit konzentrierter Lauge unter der Glocke aufgestellt war oder nicht.

Oxalsaurer Kalk bewirkte nur dann Trockensubstanzvermehrung wenn keine Lauge sich unter der Glasglocke befand.

Stutzer erklärt diesen Unterschied damit, daß die Weinsäure direkt ernährt, während die Oxalsäure erst, nachdem sie von den Versuchspflanzen zu Kohlensäure veratmet wurde, ernährt.

Das wäre also eine indirekte Ernährung.

Propionsäure,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ .

Um die Nährkraft für Pilze zu prüfen, wurde die Propionsäure zu 0,2 Proz. in Wasser gelöst, mit Kali neutralisiert und mit den nötigen Mineralsalzen, sowie mit einer Spur Hefe versetzt.

Nach 6 Tagen war die Flüssigkeit trübe von Spaltpilzen, welche sich unter dem Mikroskop als sehr kleine Stäbchen erkennen ließen.

Hefe war nicht gewachsen.

Nun wurde eine Spur freier Phosphorsäure zugesetzt, so daß die Reaktion deutlich sauer war.

Auch nun bildete sich, trotz dieser für Hefe günstigeren Verhältnisse, keine Hefenvegetation.

Propionsäure ernährt die Hefe nicht.

Wenn man in einer 0,2 Proz. Propionsäurelösung Spirogyren unter Kohlensäureausschluß dem Lichte aussetzt, so setzen sie binnen einigen Tagen Stärke an.

Somit kann die Propionsäure von Algen assimiliert werden.

Milchsäure,  $\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$ .

Mit dieser Säure erhielten schon C. und W. Naegeli positives Resultat (a. a. O. p. 312).

Es wurde eine Lösung von 0,4 Proz. milchsaurem Ammoniak mit mineralischen Nährsalzen versehen; die Nährlösung enthielt nur Milchsäure als Kohlenstoffquelle.

Es trat reichliche Spaltpilzbildung ein.

Ein bemerkenswerter Unterschied gegenüber gleichzeitig angestellten und in jeder Beziehung gleich behandelten Versuchen mit Lösungen von weinsaurem Ammoniak und essigsaurem Ammoniak war nicht vorhanden.

Bei einigen Algen versuchen mit 0,2—0,5 Proz. Milchsäure unter Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß setzten Spirogyren Stärke an (nach Neutralisation).

Also eignet sich die Milchsäure auch zur Ernährung grüner Pflanzen.

Bernsteinsäure,  $\text{COOH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{COOH}$ .

Diese Säure, welche sich von der Weinsäure durch den Mangel zweier Hydroxylgruppen unterscheidet und an Stelle dieser zwei Wasserstoffatome besitzt, wurde auch eine Prüfung auf Nährkraft bei Hefe unterzogen.

Es wurde eine 0,2 proz. Lösung hergestellt, diese mit Kali genau neutralisiert und mit den nötigen Mineralsalzen, sowie mit einer Spur Hefe versehen.

Nach 6 Tagen hatte sich nicht eine Hefenvegetation, sondern eine ziemlich kräftige Spaltpilzvegetation eingestellt, bestehend aus winzig kleinen Stäbchen.

Um die Spaltpilze auszuschließen, wurde nun eine weitere Lösung ebenso hergestellt, aber mit Phosphorsäure etwas angesäuert; eine Spur reiner Hefe wurde zugesetzt.

Trotzdem entwickelten sich hauptsächlich Bakterien (das Lösungswasser war nicht sterilisiert, die Luft hatte Zutritt), wie die mikroskopische Untersuchung ergab.

Nur ganz vereinzelt fanden sich auch sprossende Hefezellen vor.

Die Bernsteinsäure ist, wenn überhaupt, jedenfalls eine schlechte Nahrung für Hefe, dagegen eine mittlere für Bakterien.

In 0,2 proz. Lösung von Bernsteinsäure (neutralisiert) setzen *Spirogyren* bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß Stärke an.

Weinsäure,  $\text{CH}_2\text{OH}.\text{CHOH}.\text{CHOH}.\text{CH}_2\text{OH}$ .

Sie erwies sich bei den Bakterien als sehr brauchbare Kohlenstoffnahrung.

Naegeli löste weinsaures Ammoniak zu 0,4 Proz. in Wasser auf und setzte die nötigen Mineralsalze dazu.

Nach einiger Zeit stellte sich eine reichliche Spaltpilzvegetation ein, welche ungefähr ebenso stark war wie die mit 0,4 Proz. milchsaurem Ammoniak und 0,4 Proz. essigsaurem Ammoniak.

Ich selbst stellte mit Weinsäure folgende Versuche an:

1. Weinsaures Ammoniak wurde zu 1 g in 100 cem Wasser aufgelöst; dazu kam noch 0,1 g Monokaliumphosphat + 0,2 g Magnesiumsulfat + 0,01 g Calciumchlorid. Nach wenigen Tagen wurde die Flüssigkeit trüb von Spaltpilzen, nach 8 Tagen war sehr starke Trübung und starker Flockenabsatz da.

2. Dieselbe Lösung mit nur 0,1 Proz. weinsaurem Ammoniak trübte sich auch nach einigen Tagen, der Absatz der Bakterien war aber nicht so stark wie bei 1.

3. In 0,01 proz. Lösung des weinsauren Ammoniaks (mit Mineralsubstanz in der vorher angegebenen Menge) trat binnen 5 Wochen keine Trübung ein.

Die Verdünnung ist hier also soweit getrieben, daß kein Baumaterial zum Aufbau neuer Pilzzellen übrig bleibt; es wird alle Nahrung im Lebensprozeß (durch Oxydation) verbraucht.

Mit 0,2 Proz. Weinsäure neutralisiert bilden *Spirogyren* Stärke (bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß).

Wenn man die Weinsäure als freie Säure zu den Versuchen anwendet, so mißlingen letztere.

Selbst in sehr verdünnten Auflösungen der freien Säure tritt bald ein Absterben der Algen ein.

Das ist der Grund des Mißerfolges.

Die Weinsäure wird von Naegeli und Loew als Kohlenstoffquelle dritten Ranges bei Pilzen aufgeführt.

Buttersäure (Gärungsbuttersäure, normale Buttersäure, Propylkarbonsäure)  $\text{CH}_3.\text{CH}_2.\text{CH}_2.\text{CO}_2\text{H}$ .

Wie Maercker in der Zeitschr. f. Spirit.-Ind. 1881. No. 7, mitgeteilt hat, stört die Buttersäure schon von 0,05 Proz. an die Gärung in gärender Melasse.

Vermutlich wird also das Gärungsenzym und dann jedenfalls auch das Hefeplasma geschädigt, denn letzteres pflegt ja empfindlicher zu sein als Enzyme.

Nach meinen Untersuchungen reicht 0,05 Proz. Buttersäure noch nicht aus, um die Vermehrung der Hefe unmöglich zu machen (bei guter Ernährung mit Zuckerpepton....) (B. in A.-Br. und H.-Ztg. 30. Juni 1906.).

Demgemäß ist von einer Ernährungswirkung der Buttersäure bei Sproßhefe nicht viel zu erwarten. Es sind auch keine positiven Resultate mit Hefe bekannt.

Jedoch gelang es mir mit 0,1 Proz. Buttersäure, die mit Kalkwasser neutralisiert war, Spaltpilzhäute zu erhalten, außerdem Schimmelpilze (Bokorny, Chem.-Zeitg. 1896. No. 9.). Natürlich waren die nötigen Nährsalze zugegeben; Buttersäure war die einzige Kohlenstoffquelle.

Auch an Algen erhielt ich positives Resultat (B., Chem.-Zeitg. 1894. No. 2.).

Spirogyren blieben in 0,1 Proz. mit Kalkwasser neutralisierter Lösung (unter Zusatz von etwas Monokaliumphosphat) 3 Tage am Leben und zeigten dann erheblichen Stärkeansatz (bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß). Diatomeen bilden Fett.

Baldriansäure (Normale, Gärungs-)  $\text{CH}_3\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{COOH}$ . Sie ist für Hefe ebenfalls giftig.

0,05 Proz. Normalbaldriansäure läßt noch eine Vermehrung der Hefe zu, 0,1 Proz. aber nicht mehr.

Die Giftigkeit ist größer als sie bei einer so schwachen Säure zu erwarten wäre, wenn es nur nach der Acidität ginge.

Positive Resultate mit Baldriansäure an Pilzen liegen nicht vor.

Hingegen ergaben mir Spirogyren positives Ergebnis (B., a. a. O.).

In 0,1proz. mit Kalkwasser neutralisierter Lösung zeigten Spirogyren nach 3 Tagen gutes Aussehen und etwas Stärkeansatz (bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß).

Besonders *Sp. nitida* ließ einen solchen erkennen, während *Sp. majuscula* entschieden weniger Baldriansäure assimiliert hatte (bei andern Versuchen, z. B. einem mit Leucin, war *Sp. majuscula* besser ernährt; es ist also nicht immer gleichgiltig, welche Arten man zu den Versuchen anwendet).

Isobaldriansäure scheint etwas weniger schädlich zu sein für Hefe, als Baldriansäure.

Versuche über Ernährungstüchtigkeit derselben bei Pilzen oder bei Algen finde ich nicht vor.

Zitronensäure,  $\text{C}_3\text{H}_4(\text{OH})(\text{COOH})_3$ , nach Naegeli C-Quelle dritten Ranges für Pilze.

Sie kann nach Naegeli und Loew, neutralisiert, der Preßhefe zur Nahrung dienen.

Dieselben wandten z. B. 300 ccm Nährflüssigkeit (Aufguß von Holzasche, oder Erbsenasche, oder Hefenasche) an und setzten 0,2 Proz. phosphorsaures Ammoniak und 1,4 Proz. Zitronensäure hinzu als einzige Kohlenstoffquelle.

Es bildeten sich sehr reichlich Schimmel- und Sproßpilze (a. a. O.).

Bei einem Kontrollversuch, welcher keine Zitronensäure enthielt, unterblieb die Pilzvegetation.

Spirogyren setzen in 0,2proz. Lösung (bei Lichtzutritt und Kohlensäure-Ausschluß) Stärke an (B., Chem.-Zeitg. 1894. No. 2.). Diatomeen Fett.

Asparaginsäure:  $\text{COOH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CHNH}_2\cdot\text{CO}_2\text{H}$ .

Daß dieselbe eine gute Kohlenstoffnahrung für Bakterien sei, wurde von O. Loew hervorgehoben (Beitr. z. chem. Fähigkt. d. Bakt., Centralbl. f. Bakt. 1891. p. 361.).

In einer mit Kali neutralisierten 0,2proz. Asparaginsäure-Lösung bildet sich nach Zusatz aller nötigen Mineralsalze und einer Spur Hefe (Bier-) binnen wenigen Tagen im Brutofen eine Hefenvegetation aus.

Einzeln liegende und zu Sproßverbänden vereinigte Hefezellen finden sich zahlreich in jedem Tröpfchen der Flüssigkeit vor.

Daneben entsteht freilich auch eine Spaltpilzvegetation, bestehend aus sehr kleinen Stäbchen. (B. in Dingl. polyt. Journ. Bd. 303. H. 6—7.).

Die Asparaginsäure ist eine Kohlenstoffquelle für Hefezellen (wie auch für Bakterien).

Sie können wachsen, wenn in einer Nährflüssigkeit keine andere Kohlenstoffquelle vorhanden ist als Asparaginsäure; wahrscheinlich kann sie auch als Stickstoffquelle dienen.

In 0,2proz. Auflösung von Asparaginsäure ergeben Spirogyren Stärkeansatz (bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß (B., Chem.-Zeitg. 1894. 18. No. 2.).

Diatomeen zeigen Fettbildung bei Asparaginsäure-Zufuhr (B. ebenda). Glyoxalsäure,  $\text{COH.COOH}$ .

Sie wurde vom Verf. als Nährstoff für Bakterien erkannt (Chem.-Zeitg. 1896. No. 9.).

In einer 0,1proz. Auflösung, die neutralisiert und mit mineralischen Nährsalzen versehen wurde, zeigte sich bald eine Spaltpilzvegetation.

Bemerkenswerter Weise ist das so nahestehende Glyoxal  $\text{CHO.CHO}$ , ein Aldehyd mit 2 Aldehydgruppen, ganz untauglich zur Ernährung von Bakterien, wiewohl es keine giftige Beschaffenheit besitzt (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1892). Es hängt das nach O. L. mit der Schwierigkeit der Entstehung von  $\text{CHOH}$ -Gruppen für die Eiweißbildung zusammen.

Bei grünen Pflanzen wurde nur ein Versuch mit Glyoxalsäure angestellt, er fiel positiv aus (Spirogyra).

Brenztraubensäure,  $\text{CH}_3\text{CO.COOH}$ , Acetylameisensäure.

Sie ist nach O. Loew eine gute Kohlenstoffnahrung für Spaltpilze (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1892.).

Desgleichen die Lävulinsäure oder Acetylpropionsäure.

Hingegen sind nach B. Meyer (Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. 1891. p. 1671.) Citraconsäure und Mesaconsäure, beide von der Formel  $\text{C}_3\text{H}_4(\text{CO}_2\text{H})_2$ , keine Kohlenstoffnahrung für Pilze.

(Fortsetzung folgt im nächsten Heft.)

### Inhalt.

#### Original-Abhandlungen.

**Bokorny, Th.**, Organische Kohlenstoffernährung der Pflanzen, p. 191.

**Kürsteiner, Richard**, Die Bakterienflora

von frischen und benutzten Streumaterialien, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Einwirkung auf Milch, p. 1.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung **Gustav Fischer** in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 2. September 1916.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.



*Nachdruck verboten.*

## Über den Einfluß des wechselnden Barometerstandes auf den Verlauf der alkoholischen Gärung und biologische Vorgänge überhaupt.

[Aus der Großh. Badischen Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Augustenberg.]

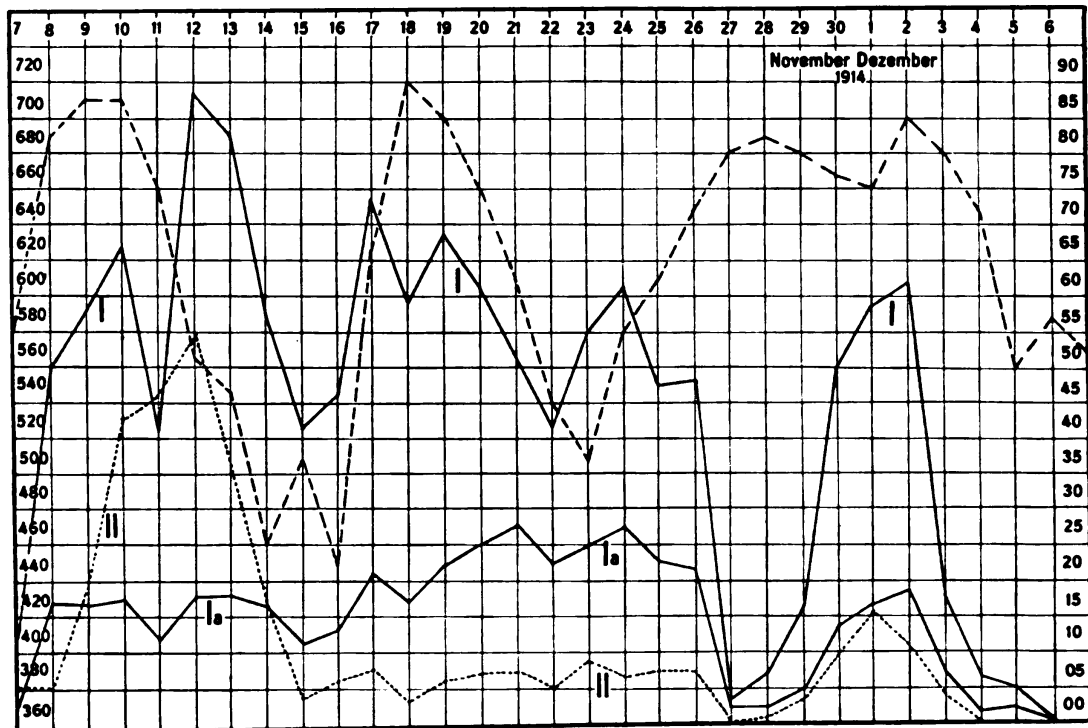
Von Dr. August Rippel.

Mit 2 Kurven-Tabellen im Text.

Gelegentlich orientierender Kulturversuche mit einer im hiesigen Institut gezüchteten, zur Abgabe von Reinhefe für die Praxis bestimmten Weinheferasse „Steinberger“ in künstlichen Nährlösungen fiel mir folgendes auf: In solchen Nährlösungen, in denen neben mehr oder weniger intensivem vegetativen Wachstum nur eine schwache, sich wochenlang hinschleppende Gärung stattfand, zeigte sich, wenn die Kohlensäure-Abgabe durch Wägung der zu den Versuchen benutzten Erlenmeyer-Kölbchen bestimmt wurde, daß der Verlauf der Kohlensäure-Abgabe, graphisch dargestellt, keineswegs von Beginn der Gärung an allmählich zu einem Höhepunkt ansteigt, um von da an wieder gleichmäßig abzunehmen — was man als eine ideale Gärkurve bezeichnen könnte — (also etwa im Sinne einer Parabel, aber mit weniger steil absteigendem Sthenkel), sondern eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Zickzackkurve aufweist, deren Höhepunkt nicht immer in einmaligem Anstieg erfolgt. Bei stürmisch verlaufenden Gärungen in günstigen Medien, wie es z. B. bei einer Reingärung in sterilem Most der Fall ist, wird sich die Gärkurve dem idealen Verlauf nähern, sofern natürlich die Außenbedingungen konstant sind; doch tritt auch hier später im absteigenden Teil der Kurve, wenn die Gärung sich dem Ende nähert, mehr oder weniger stark ausgeprägt eine Zickzackkurve auf. Es ist das bei einer schnell gärenden Heferasse, wie es die Rasse Steinberger ist, nicht in dem Maße der Fall als bei einer langsam gärenden, wie z. B. bei der ebenfalls im hiesigen Institut in Reinkultur geführten spanischen Rotweinhefe (von einem spanischen Rotwein gezüchtet), besonders wenn man die Gärung bei etwas niedrigerer Temperatur erfolgen läßt.

Es bestand nun die Vermutung, daß dieser Zickzackverlauf der Gärkurve eine unmittelbare Folge des wechselnden, bald höheren, bald niederen Barometerstandes sei (die Versuche fielen in die Zeit stark wechselnden Luftdruckes, im Winter), derart, daß hohem Barometerstand geringere, niederem höhere Kohlensäure-Abgabe entsprechen würde. Es zeigte sich auch bei den vielen ausgeführten Wägungen, daß die Schwankungen alle gleichsinnig verlaufen, also nicht von dem individuellen Zustand des verwendeten Impfmateri als oder der betreffenden Heferasse abhängig sind, sondern von äußeren Bedingungen. Es sei noch ausdrücklich betont, daß die Versuchskölbchen im Thermostaten standen bei annähernd konstanter Temperatur von etwa 24°.

Auch Gärungen, die bei wechselnder und niedrigerer Außentemperatur (12—16°) erfolgten, zeigten gleichsinnige Schwankungen. Dabei konnte auch festgestellt werden, daß die dann auftretenden, nur geringen Temperaturschwankungen die Gärkurve keineswegs immer im Sinne einer durch sie hervorgerufenen Schwankung beeinflussen. Auch ein mit dem 8. Dezember eingetretenes Wärmemaximum zeigte keinen Einfluß; der Höhepunkt der Kohlensäureabgabe fällt mit dem einige Tage später vorhandenen Barometerminimum zusammen. (Tabelle II.)



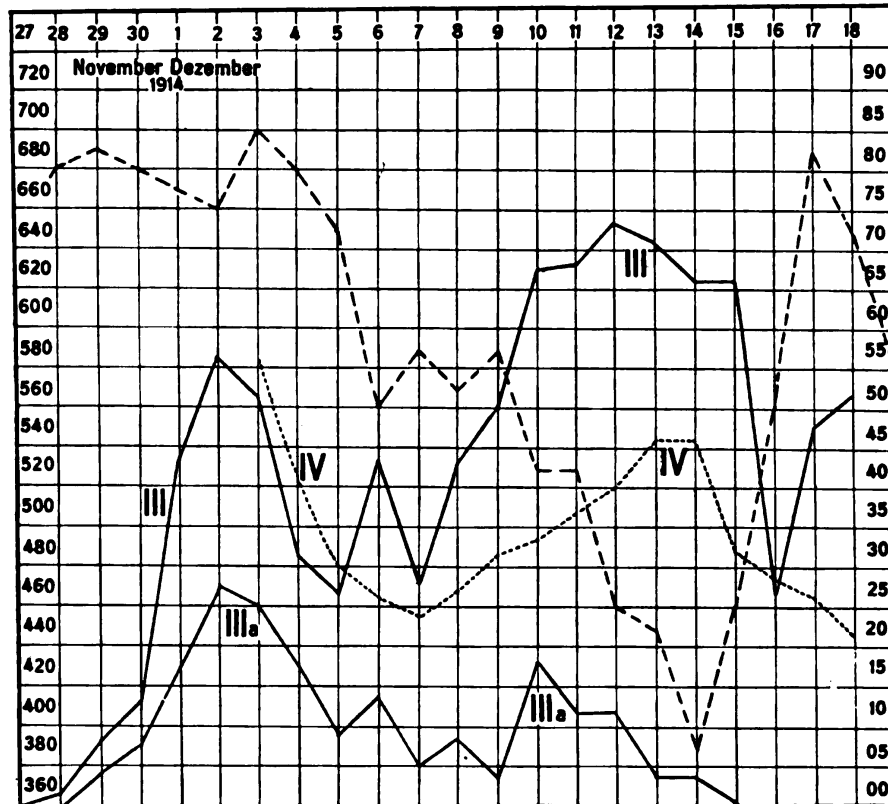
Kurven-Tabelle 1.

Eine flüchtige Prüfung der vermuteten Abhängigkeit der Kohlensäureabgabe vom schwankenden Luftdruck an der Hand einiger früherer Wägungen die im hiesigen Institut ausgeführt wurden, verglichen mit den in der Veröffentlichung der Oberdirektion für Wasser- und Straßenbau niedergelegten Zahlen der damaligen Barometerstände bestätigte diese Annahme und ließ eine weitere Prüfung wünschenswert erscheinen.

Die Ausführung der Versuche wurde möglichst einfach gehalten: ein Gärverschluß wurde nicht angewendet, um den Luftdruck möglichst unmittelbar wirken zu lassen; auch hatte er sich für einige unter vermindertem Druck auszuführende Vergleichsversuche als störend erwiesen. Die vorher erwähnten Versuche waren ja auch unter Gärverschluß ausgeführt; die Schwankungen waren jedoch auch deutlich zu erkennen. Ungeimpfte Vergleichskölbchen, sowie solche mit Nährlösungen, in denen nur eine äußerst geringe oder gar keine Gärung auftrat, zeigten, daß die Schwankungen in der Verdunstung ganz geringfügig blieben und dadurch unberücksichtigt gelassen werden konnten, daß die an ungeimpften Kölbchen festgestellte Verdunstungsgröße (beispielsweise etwa 0,16 g bei 50 ccm Flüssigkeit) etwas

erhöht wurde (auf 0,20 g in diesem Falle) und nur der über 0,20 g festgestellte Gewichtsverlust als Kohlensäure-Abgabe in Rechnung gesetzt wurde.

Von den erhaltenen Zahlen wurden Kurven konstruiert und verglichen mit der Kurve des derzeitigen (nicht reduzierten) Barometerstandes, wie er aus dem täglichen Mittel von 12 Bestimmungen (im Zwischenraum von 2 zu 2 Stunden, von 12 zu 12 Uhr nachts gerechnet) erhalten wurde. Die Barometerstände sind den Aufzeichnungen der Oberdirektion für Wasser- und



Kurven-Tabelle 2.

Straßenbau entnommen<sup>1)</sup>, und gelten für Karlsruhe; die Zahlen gelten also mit vollkommener Genauigkeit, da die Versuchsanstalt etwa 5 km Luftlinie von dort entfernt liegt.

Zur Erläuterung der Kurven-Tabellen sei folgendes angeführt: Die Abszisse gibt die Tage der Beobachtungen an; das jeweilige Datum ist oben angegeben; es gilt für die Barometerstände; für die Betrachtung der Gärkurve wurde die tägliche Messung der Kohlensäure-Abgabe gegen die des Barometerstandes um einen Tag vorgerückt, da die Wägungen bereits um 8 Uhr morgens gemacht wurden, wodurch sich der Unterschied gegen den vorangehenden Tag im Vergleich zum Barometerstand, der von 12 zu 12 Uhr nachts gemessen wurde, um einen Tag verschiebt. Die Ordinate gibt links für die Barometerkurve (lang gestrichelt) die täglichen Schwankungen des Luftdrucks in Millimeter, für die Gärkurven (ganz ausgezogene Linien) rechts

<sup>1)</sup> Für die lebenswürdige Überlassung der damals noch nicht veröffentlichten Zahlen sage ich Herrn Prof. Dr. Schultheiß auch an dieser Stelle meinen besten Dank.

die täglichen Schwankungen in der Kohlensäure-Abgabe in der angegebenen Höhe in Milligramm an. Eine Anzahl der gleichzeitig angesetzten Kulturen sind zur Herstellung der Gärkurve zusammengenommen, damit die Schwankungen besser zum Ausdruck kommen; es ist dann gleichzeitig eine der betreffenden Einzelkulturen allein gezeichnet (z. B. I und I a, III und III a), die zeigt, daß sich die einzelnen der Gesamtheit gleichsinnig einordnen. Die Nährlösungen (je 50 ccm, außer IV, in kleinen Erlenmeyerkölbchen) waren folgendermaßen zusammengesetzt:

I. (4 Kulturen): 1. Traubenzucker 10 Proz., Kaliumnitrat 0,2 Proz., Kaliumphosphat 0,2 Proz., Magnesiumsulfat 0,04 Proz., Eisenchlorid Spur, Pepton 0,5 Proz. 2. Ebenso + 0,04 Proz. Zitronensäure. 3. Wie 1., aber ohne Kaliumnitrat. 4. Wie 2., aber ohne Kaliumnitrat. Die Kurve von 2. ist nochmals als I a allein dargestellt. II. Diese Kurve ist nach einer Kultur folgender Zusammensetzung gezeichnet: Traubenzucker 10 Proz., Kaliumnitrat 0,2 Proz., Ammoniumphosphat 0,2 Proz., Magnesiumsulfat 0,04 Proz., Eisenchlorid Spur, Pepton 0,01 Proz. III. (3 Kulturen): 1. Rohrzucker 25 Proz., Kaliumnitrat 0,2 Proz., Ammoniumphosphat 0,2 Proz., Magnesiumsulfat 0,04 Proz., Eisenchlorid Spur, Pepton 0,01 Proz. 2. Traubenzucker 10 Proz., Ammoniumphosphat 0,2 Proz., Kaliumsulfat 0,2 Proz., Magnesiumsulfat 0,04 Proz., Eisenchlorid Spur, Pepton 0,01 Proz., Natriumacetat 0,5 Proz. 3. Wie 2., aber statt Natriumacetat Natriumtartrat. 3. ist nochmals als III a allein dargestellt. IV. Nur eine Lösung von 150 ccm mit folgender Zusammensetzung: Traubenzucker 10 Proz., Kaliumphosphat 0,2 Proz., Magnesiumsulfat 0,04 Proz., Eisenchlorid Spur, Zitronensäure 0,04 Proz., Pepton 0,5 Proz.

Die Betrachtung der Kurventabellen I und II zeigt nun folgendes: Beim Impfen der Nährlösungen herrschte ziemlich hoher Luftdruck; unbeeinflusst davon verläuft die Gärung bei II: es ist eine Nährlösung, in der eine schnelle, kräftige Gärung einsetzt; der Hauptteil des Zuckers ist bald vergoren; erst später zeigt die Kurve geringe Auszackungen. Anders bei I, III und IV. Wir sehen hier die Kohlensäure-Abgabe unter dem Einfluß des hohen Druckes plötzlich wieder sinken und ihren Höhepunkt erst viel später erreichen. Ein Emporschnellen der Kurve bis zum Höhepunkt tritt dann mit sinkendem Luftdruck ein, was in Tabelle I gleich nach dem ersten Fallen, in Tabelle II erst bedeutend später der Fall ist. Man betrachte in dieser Hinsicht Kurve I am 12. bis 15. November und Kurve III am 10. bis 14. Dezember. Auch Kurve IV, die nur im Ausschnitt gezeichnet ist, zeigt sehr schön diesen Zusammenhang. Außer diesen großen Schwankungen wird man auch in den kleineren beobachten können, wie sich die Auszackungen der Barometerstandskurve in der Gärkurve in entgegengesetztem Sinne bemerkbar machen.

Natürlich treten nicht alle Beziehungen mit völliger Schärfe hervor. Bei größerer Kohlensäure-Anreicherung wird sich natürlich die Expansionskraft derselben über geringere Luftdruckschwankungen hinwegsetzen und andererseits wird bei einer, wenn auch nur temporär aus irgendwelchen Gründen eingetretenen Erschöpfung der Kohlensäure kein weiterer Einfluß konstatiert werden können.

Das vermehrte Entweichen der Kohlensäure ist physikalisch natürlich selbstverständlich. Für unsere biologische Betrachtung vorstehender Versuche fragt es sich, ob die durch den wechselnden Luftdruck hervorgerufene Kohlensäure-Verminderung, bzw. -Anreicherung fördernd, bzw. hemmend auf den Gärungsverlauf, also auf die Lebenstätigkeit der Hefe einwirkt.

Es wird wohl im allgemeinen angenommen, (siehe Kohl, p. 153 f.<sup>1)</sup> daß die Entfernung der gebildeten Kohlensäure günstig auf den Verlauf

<sup>1)</sup> Kohl, F. G., Die Hefepilze. Leipzig 1908.

der alkoholischen Gärung einwirkt, wenn auch die Einzelvorgänge noch nicht gesichert sind und Ortloff<sup>1)</sup> z. B. sogar wohl eine Hemmung der temporären Gärungsenergie, aber zugleich eine Förderung des gesamten Gärungsvermögens durch die Kohlensäure gefunden hat, wobei es sich allerdings kaum um eine spezifische Kohlensäure-Wirkung handeln dürfte; der Grund dürfte in der Sauerstoff-Verdrängung liegen. Abgesehen von Versuchen, bei denen unter Minderdruck vergorene Kulturen normalen in der Gärung vorauseilten, unter erhöhtem Druck vergorene gegen normale in der Gärung zurückblieben<sup>2)</sup>, fand auch Söhngen<sup>3)</sup>, daß Beigabe von Kolloiden die Gärung förderte, was er der durch die Oberflächenwirkung der Kolloide hervorgerufenen intensiveren Kohlensäure-Entbindung zuschreibt. Gleichsinnig wirkt Beigabe von vielen, eine solche Oberflächenwirkung hervorruhenden Stoffen, wie z. B. auch fein verteilter Schwefel u. a. Merkwürdigerweise konnte ich bei Kulturen im Vakuum keinen schnelleren Verlauf der Gärung erzielen; diese Kulturen zeigten einen um die Hälfte geringeren Gewichtsverlust als die unter normalem Druck gärenden, obwohl der Augenschein ein vermehrtes Entweichen der Kohlensäure zeigt. Es konnten diese Fragen damals nicht weiter geprüft werden; das soll gelegentlich später geschehen.

Wie der Einfluß einer besseren oder schlechteren Entfernung der Kohlensäure auf die Gärung und, wenn wir unsere Betrachtung auch auf weitere biologische Vorgänge, bei denen gasförmige Endprodukte (Ammoniak, Schwefelwasserstoff u. a.) gebildet werden, erweitern, auch sein mag, so wird er in ähnlicher Weise auch für die Verhältnisse in der freien Natur wirksam sein müssen. Ich möchte hier noch auf eine Arbeit von Kolkwitz hinweisen<sup>4)</sup>, die eine Bestätigung des hier Vorgetragenen bietet. Kolkwitz hat eine deutliche Beziehung zwischen niedrigem Sauerstoffgehalt in einem See zu vermindertem Barometerdruck gefunden und auf die Bedeutung der bei vermindertem Druck eintretenden Sauerstoffzehrung z. B. für das Fischleben hingewiesen.

Es wird also in der freien Natur oft zu einer vermehrten Freimachung oder Zurückhaltung gasförmiger Stoffe kommen müssen, mögen es nun Endprodukte eines biologischen oder chemischen Vorganges oder auch vorhandene Gase sein, wodurch andererseits wieder dieselben oder weitere biologische Prozesse beeinflußt werden. Wir haben ja auch in der Natur nie so extreme, von den Außenbedingungen weniger beeinflusste Prozesse wie es bei einer Reingärung der Fall ist; es wird der wechselnde Luftdruck also ganz in dem oben für langsam verlaufende Gärungen gekennzeichneten Sinne wirksam und durch Summierung der Einzelfälle ein bedeutsamer biologischer Faktor sein können.

<sup>1)</sup> Ortloff, H., Der Einfluß der Kohlensäure auf die Gärung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 6. 1900. p. 676 ff.).

<sup>2)</sup> Delbrück u. Foth, Wochenschr. f. Brauer. 1887. p. 37.

<sup>3)</sup> Söhngen, Einfluß von Kolloiden auf mikrobiologische Prozesse (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 38. 1913. p. 621—647) und Einfluß einiger Kolloide auf die Alkoholgärung. (Folia Microbiologica. Vol. 2. p. 113).

<sup>4)</sup> Kolkwitz, R., Über die Ursachen der Planktonentwicklung im Lietzensee. (Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. 32. 1914. p. 639—666).

*Nachdruck verboten.*

## A Study of the Eye Formation of Emmental Cheese<sup>1)</sup>.

[From the Research Laboratories of the Dairy Division, Bureau of Animal Industry, U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C.]

By William Mansfield Clark.

With 2 fig.

### Introduction.

The quality of a prime Emmental cheese is determined not alone by its sweet, nutty flavor and pliant texture, but also by the character of its holes.

Cracks, which frequently mar the appearance of a cheese, are intimately connected with a faulty texture. So too are the holes dependent upon proper texture for their shape; but, while the holes have a more or less spherical form as if distended by a gas in a plastic medium, there are important distinctions superficially based upon their size.

The normal "eyes", familiar to ever lover of "Swiss cheese", vary from the size of a hazel nut to that of an English walnut. When uniform in size and distribution they give "The King of Cheeses" a distinction admired by the connoisseur. To quote the words of an authority (24<sup>2)</sup> on the manufacture:

„Beim Anbohren entschlüpft dem Kenner ein bewunderndes „Ah“, wenn sich auf dem Böhrling zwei bis drei mattglänzende, sauber ausgearbeitete Augen von ein bis zwei Zentimeter Durchmesser zeigen.“

On the other hand there frequently occur large "blow holes", which not only may mar the contour of a cheese, but which sometimes are associated with an "off flavor". Last and worst are "die Nissler", "the thousand eyes", the "pin holes", which frequently ruin a cheese by making it spongy, and which always detract from its commercial value even when present in small number.

There is also a marked difference in the times, at which the various classes of holes develop. So many apparent anomalies occur in cheese making that generalizations are dangerous, but, with a fair degree of truth, it may be said, that "Nissler" holes develop while the cheese is under press or directly after; while normal eyes seldom start until the cheese is at least a week old. Again large holes seldom develop in press. They generally become evident later, and instances are noted by the European writers where they develop after normal eye formation.

Aside from the superficial distinction of size there are certain more fundamental differences of origin. Nissler holes undoubtedly have their origin in a gaseous fermentation of the sugar of fresh curd. Such a fermentation may be produced by bacteria or yeasts. When caused by bacteria the abnormal fermentation is revealed by the gaseous content of the holes, for it was shown by Clark (6), that the gas of Nissler holes may contain

<sup>1)</sup> Published by permission of the Secretary of Agriculture.

<sup>2)</sup> Figures refer to the list of references at the end of the article.

a large percentage of hydrogen, while that of normal eyes contains none. Various attempts have been made to distinguish the fermentations responsible for various types of holes. The greatest success has been met in the study of Nissler holes, for a number of bacteria and yeasts have been found whose gaseous fermentation of the sugar in fresh curd may clearly be held responsible. In like manner the formation of blow holes has been clearly traced in certain instances. The biological origin of normal eyes is still in doubt.

However, we are not now concerned with the bacterial origin of any of these openings, nor even with the texture of the cheese, which is an essential prerequisite to their formation. The point to be discussed is merely the superficial distinction of size and its cause.

Granting that the distending gas in each case has its origin in a distinct fermentation, why should this superficial difference of size be so persistently characteristic? This way of putting the question may seem like putting the cart before the horse, at least from an historical point of view, because the time was when the different fermentations were far less clearly distinguished and the difference between pinholes, "eyes" and blow holes was considered to be merely one of size, and perhaps also of the period of cheese ripening in which they are formed. B a u m a n n (2) made no other distinction than this and attributed the three general types of holes to the activities of the same organism.

W e i g m a n n (33) adds: „Auf dem Gebiete der Käsegärung haben wir gefunden, das die Käseblähung in den meisten Fällen von gewöhnlichen Milchbakterien, bezüglich Pilzen ausgeht und die normale Augenbildung und die Käseblähung physiologisch dasselbe sind und sich nur quantitativ unterscheiden.“

We now know the distinction to be qualitative, but whether it is quantitative or qualitative the same question may fairly be asked: Why is it that gas holes formed "in press" are generally small and numerous while eyes which develop slowly are large and comparatively few?

If a well based reason for this shall be found, we may have gained a better view of the more general aspects of hole formation, and a firmer grasp upon the means of scientific control we hope to allain.

Aside from its intrinsic interest the determination of the factors which influence the size and spacing of the eyes is of direct practical importance inasmuch as there are evidences that preference is turning gradually toward a cheese wit larger and fewer eyes.

In 1896 B ä c h l e r (1) described the ideal Emmental cheese as one having eyes 10—12 mm diameter, 2—4 cm. apart. P e t e r and H e l d (24) in the 1910 edition of their text book, give the diameter as 1—2 cm; as does K o n r a d i (19), who visited the Swiss factories in the summer of 1912. Thus between 1896 and 1912 the average size of an ideal eye inceased from 1.2 cm. to 2 cm.

Certainly the cheeses which sell as imported over the counters of our local markets are characterized by eyes fewer and larger than those described by the European writers; while the "domestic Swiss" have more and smaller eyes. Whether the European makers select cheeses with larger eyes expressly to meet the demands of the export trade; or whether there is a differentiation

between all cheeses of domestic or foreign make, which if texture and flavor are equal, brands a small eyed cheese as "domestic" and a large eyed as "imported", it is difficult to say. Nor is it essential to our purpose to discover, except insofar as the distinction in the market indicates a preference which the maker must meet.

In the following pages one very important factor in determining the size and spacing of holes will be presented.

### **The Relation between bacterial Colonies and Eyes.**

It seems to have been assumed by many writers that, if bacterial action is the cause of the evolution of the gas, bacteria in sufficient numbers to produce this necessary gas must be strictly localized about a hole. This certainly is the most straightforward supposition to make; and, if true, it would seem as if a comparison of the flora about the eyes with the flora in other parts of the cheese would lead at once to the discovery of the organisms to which eye formation is due. Such comparisons have, however, not furnished the striking results we would expect.

That there does appear to be an unequal distribution of bacteria in hard cheeses is indicated by the investigations of several writers. W i g a n d (34) as early as 1884 stated that the bacteria in cheese are distributed in part as clusters. Inference of an unequal distribution was found by D u c l a u x (7) and by T r o i l i - P e t e r s s o n (31) in their observations that heavy inoculations from cheese sometimes gave no fermentation when smaller inoculations did.

Burri (5) describes a rare case in which dark colored colonies unassociated with "eyes" had become large enough to see.

Harrison & Connell (15) found a difference of 30 per cent in the bacterial content of different regions of Cheddar cheese.

In judging the value of the methods of study used in the investigations mentioned above it must not be forgotten that the transference of bacteria to artificial media for the purposes of counting and cultural tests is accompanied with the presentation to the bacteria of very different conditions from those found in cheese. None of the artificial media so far devised approximates exactly the relative great power of cheese to preserve a more or less constant hydrogen ion concentration with the consequent extension of growth and the control of enzyme action. Thus an organism or its liberated enzymes may be able to produce in cheese much more  $\text{CO}_2$  than in artificial media; and, as the limits of growth and action are reduced by artificial media, large differences in gas producing power may become narrowed to such an extent that the powers of different organisms may appear the same. It may therefore be true that some of the organisms isolated from certain regions, although culturally appearing identical in number and kind to those isolated from other parts of the cheese, may indeed have far greater  $\text{CO}_2$  producing power when growing in cheese.

But although we are prepared to be skeptical in regard to the significance of large aggregates of bacteria, should they be found to be more dense in eye regions, we actually find little evidence that they are.

J e n s e n (18), upon comparing the number of bacteria on the walls



of eyes and in parts of cheese distant from eyes, found no striking difference. In fact a glance at Jensen's table shows that often the preponderance was in favor of regions of the cheese distant from the eyes.

But let us see what evidence direct microscopical observations present. Upon the unequal distribution of the bacteria, as seen in cheese sections, Beijerinck (3), Maggiora (22), Troili-Petersson (30), Harrison (14), Percival and Mason (23) agree.

Gorini (13) determined the distribution of bacteria in Grana cheese by sectioning both fresh samples and samples hardened with alcohol. He found bacteria in enormous numbers and their distribution he grouped under two classes. The first class was that of dissemination, that is, a more or less uniform distribution of uncolonized organisms. In the second class were grouped the large colonies similar to those of plate cultures.

Rodella (25) supplemented the ordinary methods of histology by pressing cubes of cheese between two glass slides and staining the cheese which adhered to the glasses when they were withdrawn. He came to much the same conclusion regarding the distribution of bacteria.

The unequal distribution, as Gorini pointed out, should make us skeptical of "counts" as ordinarily made; not only because of the difficulty of obtaining a homogeneous sample with such an imperfectly soluble substance as cheese, but because the bacteria are so unevenly distributed. This should add to the value of the direct microscopical methods, although Boekhout and Ott de Vries (4) have protested that the scattered bacteria found in sections may have been smeared off the colonies by the knife, and Troili-Petersson suspects that many of those seen are the borders of colonies on other sections. On the other hand Boekhout and Ott de Vries claim, that many of the colonies they observed in Edam sections were of dead bacteria, and consequently were not ripening centers. To this Löhnis (20) replies that ripening may not depend upon the living bacteria but upon their liberated enzymes. Whether such enzymes are able to diffuse from the centers where they are produced may be open to question; although from analogy with the ripening of soft cheese, where it is certain that the enzymes of surface moulds penetrate slowly toward the center, we must assume that they do.

The weighed evidence of microscopical examination supported as it is by Rodella's supplementary method, seems to indicate rather clearly that the bacteria are grouped in large clusters.

But the point in question is whether these colonies are correlated with the holes. Troili-Petersson (30) found lying in the walls of the holes of Swedish "Güterkäse" long slender colonies of bacteria spread out parallel with the walls. This vegetation, however, appears not to be of any one species of bacteria, and the form and size of the colonies may have been simply due to their having the space in which to spread. Beijerinck (3) who made sections of Edam cheese expresses the opinion that the accumulations of colonies of bacteria and crystals of tyrosin, etc., which he observed are due to local causes but he speaks of no relation between colonies of bacteria and the gas bubbles he observed. Maggiora's (22) description of sections of overripe cheese give no further information. Rodella was more concerned with the relation of bacteria to ripening than with localization, and furnishes little information upon the point

we are interested in. But Gorini (13) mentions in particular that no constant relation between these accumulations and the small cracks and holes of Grana cheese was observed.

It therefore appears that direct microscopical examination has afforded very little evidence to support the view that eyes develop where colony growth is greatest. In fact it is perhaps not pedantic to say, that, even if these methods had enabled us to observe strikingly greater aggregations of bacteria about holes they would afford no conclusive evidence on the point at issue since they do not take into consideration the physiological powers of the organisms. This leaves the results of microscopical examination open to the same objections previously made against the cultural studies so far used.

Clark (6) has shown that not only regions about eyes but solid parts of cheese distant from eyes are active in the production of gas. In the experiment described the eye regions were, indeed, the more active; but in another experiment conducted since the publication of the first, no difference was observed. These observations, combined with the fact that the solid cheese mass itself contains very considerable quantities of  $\text{CO}_2$ , invalidate any such calculation as that made by Jensen (18) in one of his earlier papers in which he attempted to show that the gas produced by Freudenreichs Bacillus E was sufficient in that it furnished somewhat more than enough gas to fill the "eye" space of an ideal cheese.

Until the specific origin of the gas is more definitely known, and until these bacteria have been located in greatest abundance at points of eye formation, or their liberated enzymes have been shown to have their action confined to these localities, the evidence at hand is in favor of the view that the gas is produced more or less evenly throughout the whole body of the cheese.

One further argument is almost sufficient of itself. If eyes start about colonies, how is it that these colonies are so sparsely distributed? In a prime cheese of 1896 the eyes according to Bächler (1) were rather evenly spaced 2—4 centimeters apart. With the development of the modern largeeyed export cheeses, the spacing of the eyes has increased greatly. Yet colonies of bacteria occur so thickly distributed that they may be seen in almost any microscopic section.

#### **The Formation of gaseous Aggregates.**

There is really little reason, as well as little evidence, to support the assumption that the gas necessarily separates as gas bubbles where it is produced. It is not at all irrational to suppose that the gas, having first saturated the cheese mass, separates at advantageous points which have no necessary relation to those localities rich in bacterial growth. In other words we may suppose a process similar to the growth of crystals to take place.

Everyone is familiar with the principal phenomena of crystalization, with the fact that to start crystalization from super-saturated solutions it is often necessary to "seed" them, and with the fact that the slower the rate of separation the larger are the crystals obtained.

A step nearer the point we are concerned with is found in the case of rain formation. Lord Kelvin (28) showed that the vapor pressure over a curved surface differs from that of a plane surface. If the curvature is convex the vapor pressure is greater than that of a plane surface. Neglecting the very important factor of electrically charged nuclei, rain-drops must therefore form first upon some object such as a dust particle which presents a surface more nearly plane than that of a minute droplet. Were a minute droplet to be formed in an atmosphere just saturated with its vapor, the curvature of its surface, and consequently its vapor pressure, would be so large that it would immediately evaporate while condensation were still taking place on larger drops and dust particles. Thus we may say large drops are formed at the expense of small ones.

Attention should be called to the fact the alteration in vapor pressure is exceedingly small until the drop becomes exceedingly small, with a diameter of perhaps a millionth of a centimeter; nevertheless the difference is sufficient to prevent the precipitation of innumerable minute droplets from the atmosphere and to determine the growth to a larger size of drops already formed.

With only slight modification Lord Kelvin's treatment of the vapor pressure at curved surfaces may be applied to the gas pressure at curved surfaces of a gas in solution.

Using Lord Kelvin's diagram, Fig. 1, let it represent a closed space containing an aqueous solution of carbon dioxide with plane surface at B., a capillary tube in which this solution rises to the point A where it retains a concave meniscus. Let the remainder of the space contain only gaseous  $\text{CO}_2$  and water vapor.

Let us assume that the density  $\sigma$  of the carbon dioxide remains uniform throughout the height  $h$ , and that it is acted upon by gravity with the constant acceleration  $g$ . Let the pressure of the carbon dioxide in its liquid phase be  $w$  at the plane surface B, while at the curved surface A it is  $w'$ . Then  $w'$  must be less than  $w$  by  $g\sigma h$ . Were it not so,  $\text{CO}_2$  would distill from A and condense at B and work could be obtained contrary to the laws of thermodynamics.

Since vapor pressure and surface tension are related it may be profitable to look at this matter in another way. The pressure  $P$  tending to keep a bubble of gas spherical when suspended in a liquid is  $P = \frac{2S}{a}$  (Willows and Hatschek (32)), in which  $S$  is the surface tension of the surrounding film and  $a$  the radius of the bubble. Since  $P$  balances the surface tension the pressure of the inclosed gas must overcome the surface tension if the bubble is to expand, but since  $P$  is inversely proportional to the radius of the bubble, it is more difficult for very small bubbles to grow than for large bubbles.

If the separating gas already finds a film of gas, it will separate there rather than overcome the enormous force necessary to form *de novo* a tiny bubble.

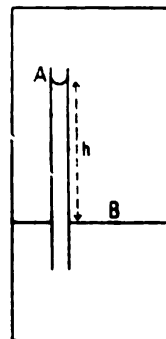


Fig. 1.

This explains the observations frequently noted that any body having an adhering film of gas becomes covered with bubbles when placed in a solution saturated with gas.

There is then a striking analogy between the growth of crystals, the formation of rain drops and the growth of gas bubbles in a solution; an analogy whose physical manifestations are numerous and whose theoretical basis has long been accepted.

The quantitative estimation of the relationships established has been purposely avoided in the above treatment, because it would be difficult to apply them to such a heterogeneous substance as cheese or even to colloidal gels such as those of agar or gelatine. Nevertheless there is no reason to suppose that the principles do not apply to such gels; and by using these viscous media, which are capable of retaining gas bubbles as water solutions can not, we may obtain some striking verifications.

#### **The Separation of Gas at Points Distant from the Source.**

If a sterile nutrient sugar solution of agar or gelatin be sown while molten with a pure culture of some gas-producing bacterium, such as *B. coli*, and then allowed to set, the gas liberated after a period of incubation separates as bubbles which are held in suspension. It can then be clearly seen that numerous colonies of bacteria have developed at some distance from the gas bubbles. The logical conclusion must be that the gas after having saturated the gel does not necessarily separate where formed, but tends to diffuse and separate into a bubble already started at some advantageous point. A more striking example is to be seen in the following experiment:

A hot sterile agar solution was poured into a sterile test tube, and when sufficiently viscous to retain a bubble of gas in suspension, such a bubble was introduced by blowing through a sterile cotton-plugged glass capillary. To seal up any channel left by withdrawing the capillary a layer of hot sterile agar was poured upon the first. When this was thoroughly set an emulsion of nutrient agar and *Bacillus coli* was poured on top. It was found that after a period of incubation, when the bacteria were presumably, producing gas very vigorously, the pre-formed bubble in the non nutrient agar increased very markedly in size. This experiment was repeated several times with uniform success. It may justly be taken to illustrate the hypothesis that the gas in a saturated colloidal gel will obey the principle deduced for pure aqueous solutions, namely, that large bubbles will be formed at the expense of small.

In the above experiment it might be claimed with justice that into the original agar jelly there diffused sufficient food material for the bacteria to produce gas there; but it is improbable that within a few hours the bacteria in the supernatant culture could grow into, or by any probable means find their way into, the region where the initial bubble was blown. Indeed no growth about the bubble was observed.

In order to definitely preclude this source of error, the following arrangement was made (see figure 2):

A collodion sac B was cemented with colodion to the glass tube A. It was then suspended in an Erlenmeyer flask. A nutrient sugar medium containing 1 per cent agar filled the Erlenmeyer within and without the flask to the level D, this level being considerably below the point where the sac was cemented to the glass tube. A very fine capillary tube C with its upper end tightly plugged with cotton was then placed as illustrated, and the neck of the flask tightly plugged with cotton. The whole apparatus was then sterilized in an autoclave.

While the agar was still molten and at a temperature of about 40 degrees, that in the sac was inoculated with *Bacillus coli*; and, when the agar on the outside of the sac was sufficiently viscous to hold gas bubbles in suspension, a few were blown in it by means of the capillary tube C. This capillary was then withdrawn. When all the agar had set, this flask was left at room temperature (about 22 degrees) to incubate the bacteria.

As in the former experiment the pre-formed bubbles grew in size. The collodion sac was found to be intact at the close of the experiment. It had purposely been made rather thick to prevent the bacteria making their way through it. The above experiment was made in duplicate with like result.

Although Todd (29) found that collodion membranes were not impervious to *B. coli*, Fuller (11) the next year (1910) obtained results entirely at variance with those reported by Todd. Using Frost's (10) method he found it possible to make sacs which retained their bacterial integrity for several months. The same conclusion seems to have been reached by Heymans (17) (1912).

Although the experiments of Todd and Fuller contradict each other, it should be remembered that both investigators used fluid media while in the above experiment the medium contained 1 per cent agar. The collodion thus served simply as an additional barrier. Frost using *B. typhosus* and *B. pyocyaneus*, two organisms which Todd claimed penetrated collodion sacs, found that when the sac embedded in gelatin, the organisms were retained perfectly.

There is then, every reason to believe that the bubbles which grew outside the sac and which were indeed more than 2 centimeters from the sac were thoroughly separated from any bacterial contamination.

But if the posed explanation be true, there follows an almost necessary corollary. To induce growth of a crystal time must be allowed for delicate adjustment of equilibrium else new crystals will be formed soon to compete for the substance in solution upon an equal basis with the first formed crystals. In like manner the rate of gas production must be low if a bubble already formed is to grow without competition, for if the gas is formed rapidly

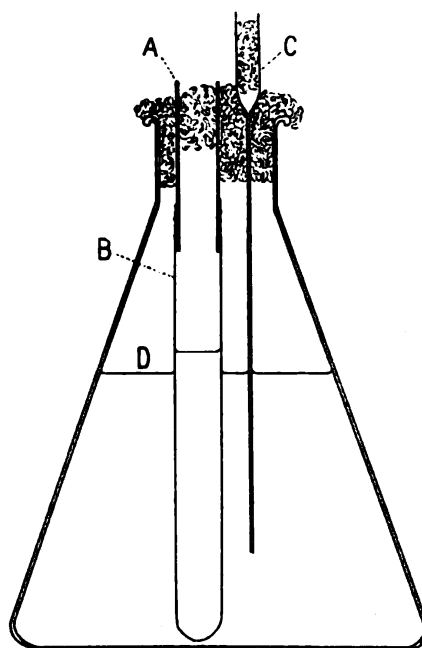


Fig. 2.

it can not become diffused and distributed from the points of production rapidly enough to prevent supersaturation of these regions. When this supersaturation becomes sufficiently great the gas must separate from solution. Consequently when the rate of gas production in a culture is rapid many small bubbles will be formed; and when the rate is slow the tendency will be toward the formation of larger aggregations or larger bubbles.

An illustration of this is furnished by Mr. Ayers of this laboratory. In some studies on the Wisconsin curd test Mr. Ayers found that curds containing numerous gas producing bacteria, and consequently subjected in general to a high rate of gas production, were filled with numerous very small holes, while curds containing fewer bacteria, and consequently subjected to a lower rate of gas production, were inflated with larger holes. It may of course be said that the number of holes correspond to the number of colonies; not a numerical correspondence, for such does not occur, but a parallelism. On this basis we might perhaps explain Mr. Ayers' observations by saying, that when a certain number of colonies in a thickly seeded culture have formed a small bubble other groups of colonies throughout the medium have done likewise and at the same time have formed sufficient acid to prevent further growth of bacteria and consequently further gas formation. The result would then be numerous small bubbles. On the other hand, if the colonies are very much less numerous the surrounding regions would furnish by diffusion both more food per colony and more absorption of acid per colony. In consequence, large holes would be produced. This explanation while plausible is only partially justified. In the first place there is no numerical correspondence between the number of colonies and the number of holes as can be seen with the naked eye in a clear gelatine culture of *B. coli*. It must therefore be granted that the gas, before it separates, actually does diffuse from the points where it is formed. Postulation of extra cellular gas-producing enzymes would only emphasize this, since such enzymes if at all diffusible would be even more widely distributed than the bacteria. But in the second place, the writer has found that of two 200 cc. flasks of the same gelatine media each inoculated with 760,000,000 bacteria, that kept at 15 degrees had larger gas holes than that kept at 20 degrees. It is difficult to explain this except on the basis that the 15 degree culture had a lower rate of gas production which allowed time for larger bubbles to grow just as in the crystallization of salts the larger crystals will be formed during the slower crystallization.

Although factors other than the rate of gas production may influence the size and number of gas holes in a culture, the chief factor seems to be the rate.

#### Application of the Principle to Cheese.

It therefore follows that a rapid production of gas in cheese would result in the formation of numerous small holes, while with a slow rate the holes would tend to be large. In general it may be said at once that such a relationship does occur. The Nissler holes of Swiss cheese are small, and they are formed rapidly. The eyes are only formed after some time has elapsed, and grow with extreme slowness.

At this point it may be well to comment upon some objections which have doubtless occurred to the reader. In the first place are there not in

cheese a sufficient number of gas bubbles enclosed in the curd during the manufacture to furnish innumerable gaseous nuclei for the separation of innumerable bubbles instead of relatively few "eyes". Examination of curd grains in the kettle do indeed sometimes show that they have adhering to them bits of froth, but it must be remembered that when the cheese goes to press its temperature is high and that these tiny bubbles may be absorbed when the cheese cools. If one blows tiny bubbles in a viscous solution of agar (40 degrees) or in a fairly warm gelatine solution, these bubbles will be seen to entirely disappear as the solution cools, — provided of course the bubbles were originally not too large. There can be little doubt that a like absorption takes place in cheese.

It may further be questioned whether the solid particles of cheese do not furnish innumerable nuclei for the separation of gas bubbles just as dust in the atmosphere furnishes the nuclei for the condensation of rain. To this question we have a positive answer in the experiments of Gernez (12).

Gernez found that in the separation of gas from supersaturated solutions solids alone do not serve as nuclei. A film of gas upon the solid surface is an absolute essential. If a glass rod is plunged into a supersaturated gas solution bubbles are formed upon those surfaces which had been exposed to the air; but if the rod is broken while in the solution no bubbles form upon the freshly exposed surface. Likewise, precipitates if formed in gas-free solutions, do not serve as nuclei for bubbles when placed in supersaturated gas solutions. It appears then that a solid, if it is to serve as a nucleus for a gas bubble, must have a surface film of gas.

We are therefore justified in believing that the cheese curd goes to press with few so-called nuclei of any kind which may induce the growth of gas holes.

But let us see what further evidence there is that the formation of gas holes in cheese does follow the analogy to crystal growth which has been proposed.

Freudenreich (8) in his cheese making with *Bacillus Schafferi* found that this organism could produce Nissler cheeses and also blown cheeses; and he therefore considered that these faults are not necessarily due to different bacteria.

Freudenreich's explanation was as follows:

If the bacteria are allowed to develop to such an extent before the cheese is made that they are numerous and evenly distributed throughout the milk, Nissler holes are formed because there are numerous colonies. If, however, the cheese is made up directly after inoculation the colonies are fewer and the cheese develops blow holes. Undoubtedly there is a good deal in this theory; but it should be asked is even in Nissler cheeses we are to assume the number of colonies equal only to the number of gas holes, and especially to when these holes are several centimeters apart. If we look over carefully Freudenreich's paper we shall find in the first place that his Nissler cheeses were those which gased in press while his blown cheeses took a week or ten days to blow; indicating that the time factor was an important one, and that what we may call the crystallization of the gas was the important factor. Furthermore it is significant that in at least one of Freudenreich's crucial experiments the bacteria introduced were not allowed to develop before but after the addition of the rennet. Now it is known that rennet acting upon pasteurized milk such as Freudenreich used

in this experiment takes longer to produce a firm enough curd for cheese making; nevertheless it rapidly, sometimes more rapidly than in raw milk, produces a thin coagulum. Therefore in Freudenreich's experiment we would surely not expect the bacteria to have been scattered after the addition of the rennet but to have attained larger colony growths. If this assumption be correct we would have expected a blown cheese according to Freudenreich's hypothesis. Instead he obtained a Nissler. The simpler explanation appears to be that he obtained in this case colony growth of such extent that a rapid gas production took place, and that, in consequence of this high rate, the gas had to separate close to the points where it was produced.

Of course this interpretation must not be construed too rigidly. If there are present in the milk particles of cow dung, the infection of the cheese may become so rank at certain points that nothing short of a blow hole will be produced at these points. Jensen (18) actually observed this correlation and Freudenreich (8) found that paper pellets soaked in a culture of *Bacillus Schafferi* produced blow holes in the cheese about these rank infections.

In such a case the gas, though it may separate at frequent points near its origin and though it may tend to produce a "Nissler" cheese can not stop short of the production of a "Blown" cheese with large holes because of the abundance of the gas which must separate. The holes of such rapidly blown cheeses however reveal the manner of their formation by the irregularity of their contour. They appear to have been distended by a more or less explosive gas production and are without that clean-cut, neatly spherical contour of the perfect eye, which results when time is allowed for the adjustment of tensions.

#### Stained Cheeses.

One test to which we may subject the hypothesis which has been suggested is the following: If Nissler holes are formed at the points where the gas is produced or even close to those points, then no particular locality in the cheese should be favored provided the bacteria are distributed both within and without the curd grains. On the other hand, if normal eyes are formed so slowly that time is given for the gas to assemble and separate at favorable localities, we should expect to find these localities to be of some definite nature.

That the bacteria in fresh curd are distributed both within and without the curd grains can not be doubted, although it may be that their numerical distribution differs. Harrison and Connell (15) state that upon inoculating milk with a gas-producing organism more of these were found on the exterior of the curd particles than within. Russell and Weinzirl (26) found fewer organisms in the curd than in the expressed whey.

On the other hand Hastings, Evans and Hart (16) find that the curd retains the greater part of the bacteria found in milk. These observations apply to Cheddar curd. Freudenreich and Jensen (9) observed that in the manufacture of Swiss cheese the greater part of the bacteria were to be found within the curd grains.

If it be permissible to draw a definite conclusion from this, it is that the method of manufacture of Swiss cheese, and especially the high cooking temperature, is least destructive to the bacteria within the curd. We should



therefore expect the gas producers in a Nissler cheese to be distributed both within and without but predominatingly within the curd grains.

In 1896, B ä c h l e r (1), an experienced cheese maker, proposed that eyes are formed between curd particles. The writer has been unable to obtain a copy of B ä c h l e r's original paper but from abstracts has gathered that his view was as follows:

When the curd is hooped, if the whey is not thoroughly expelled from between the curd particles, pockets of whey will be retained. After the cheese leaves the press the whey from these pockets will be absorbed and a "weak" spot left. Whether B ä c h l e r meant an actual hole or a place where the curd grains were imperfectly matted is not clear. The latter interpretation is probably more just, for B ä c h l e r must have observed the irregular holes, so-called "mechanical holes", which sometimes occur in weakly pressed curd, and he would not have mistaken these for incipient eyes. A normal eye from the moment of its origin retains its characteristic spherical shape, and, when small, closely resembles a Nissler hole. It is probably imperfectly matted curd grains which B ä c h l e r meant by weak spots.

If this be so, it is obvious that a method of testing his hypothesis would be to so stain the surface of each individual curd particle that in the solid cheese its outline would remain distinct. If in a cheese so stained a gas hole should form between curd particles its interior wall would be colored; while if it should originate within a curd grain the interior wall would remain uncolored. An admirable dye for this purpose was found in Congo red. When this was sprinkled into the kettle just before the curd was drawn it stained the surface of each curd grain a uniform red and did not penetrate. A cross section of a cheese so stained revealed the distinct outline of each original curd particle.

Two stained Nissler cheeses were made by the addition of cow dung to the milk. Upon cutting these cheeses when taken from the press it was found that the gas bubbles were not correlated with any particular locality. In numerous instances they were clearly seen to be wholly within the curd particles, while in other cases they had pushed aside the walls and formed holes whose interior walls were stained.

On the other hand, stained and apparently normal cheeses which developed apparently normal eyes presented a very different appearance when cut. Almost without exception the holes had the characteristic appearance of normal eyes, and their interior walls were all without exception stained.

There can be little doubt therefore that no particular locality is favored when Nissler holes form: while, at least in the experimental cheeses, the eyes without exception developed between curd grains. This is in harmony with the hypothesis that the gas of Nissler holes, because it is formed rapidly, must escape from solution near where it is formed, while the gas of eyes, having time to diffuse and to keep a closer equilibrium between its gaseous and liquid phases, separates first at a favorable locality, and there forms an aggregate comparable with a crystal.

We must be careful to say that "at least in the experimental cheeses the eyes developed between curd grains". The dye used injured to a slight extent the matting quality of the curd, so that there may have been produced artificially those weak spots suggested by B ä c h l e r. If so, it alters in no way the validity of the argument that eye development takes place in fa-

vored localities, although some slight doubt may be thrown upon the conclusion that in an undyed cheese these places are between curd grains.

Closer examination of the eyes of dyed cheese reveals an interesting point. It was noticed that in a great majority of cases the interior walls of the eyes were not uniformly stained. A small portion was unstained and almost of as clear a white as an undyed curd grain. Inspection of the curd grains in the vat showed that they were generally uniformly stained but occasionally enfolded surfaces and occasional unopened cracks were detected whose surfaces the dye had not reached. An eye developing in contact with such a surface would have its interior wall only partially colored.

In regard to the nature of the localities at which the gas separates there is, beside the hypothesis of Bächler(1) that of Schaffer(7). Schaffer's studies of eye development as followed with the X rays led him to believe that the regions of eye growth were regions of sufficiently active proteolysis to allow the curd to be absorbed and give way to the expansion of the gas. Schaffer tried to explain away Jensen's finding that there was no distinct difference in the composition of the cheese near eyes and distant from them; but, while we admit that Jensen's method of analysis was not very delicate, we must also admit that Schaffer's evidence is of somewhat dubious value.

Why any particular locality should be favorable to the development of a gas bubble it is difficult to say; but from the striking appearance of the eyes of cheeses stained with congo red, it is very evident that the eyes do start at particular points. Whether or not the eyes originated between curd grains, the surfaces of the eyes ultimately involved the surfaces of the curd grains.

Perhaps the unequal coloring of the eye surfaces is due as suggested to an unstained surface being involved; perhaps it is due to some proteolytic effect such as Schaffer has suggested whereby the interior of the curd grains became exposed, perhaps the congo red was reduced.

Whatever the situation may be, the fact remains that the stained cheeses clearly demonstrate a difference in the locality of Nissler holes and normal eyes, a difference which demonstrates the only point with which we are now concerned; namely, that a sudden evolution of gas will result in many small gas bubbles located where the gas is produced, that with a slow evolution of gas, separation takes place at favorable places only.

The position of any particular eye, its rate of growth and its ultimate size depend upon a great many factors. We have not considered the influence of the texture of the cheese, its permeability to gas, the tension of the rind, nor the influence of proteolysis and of the fat content upon the surface tension of an eye surface. These all must be considered in time, and to prevent confusion each should receive attention separately. All of these factors however are merely modifying influences, and none affects the validity of the argument that the gas in separating into bubbles in cheese follows the same laws that it does in ginger ale and the same laws that apply in different degree only in the separation of gaseous liquid or solid aggregates from their saturated solutions.

## Summary.

A review of the literature reveals little or no evidence that the eyes of Emmental cheese are strictly localized at points of excessive bacterial growth. On the contrary the evidence of bacterial counts, and direct microscopical examination as well as the gas production of different regions of the cheese indicate a more or less uniform distribution of the eye distending gas.

Certain theoretical considerations are presented which lead to the hypothesis that the gas separates in aggregates according to laws governing the separation of gas from supersaturated aqueous solutions. This hypothesis has been tested upon viscous media with results directly applicable to the "eye" and "Nissler" hole formation in cheese.

It is concluded that the gas produced in Emmental cheese separates in aggregates whose localities have no necessary relation to the points where the gas is produced, that a rapid gas production must tend to the formation of numerous small holes while a slow gas production must admit the formation of larger holes. This conclusion is shown to agree with the fact that Nissler holes are produced by a rapid fermentation while eyes are formed slowly. This conclusion also suggests that the gas of Nissler holes must separate at numerous points near its point of origin without regard to any particular locality of the cheese; while the eyes must form at favorable points.

This was experimentally verified.

1. Bächler, C., Beiträge zur Erforschung des Gärungsverlaufes in der Emmentaler Käsefabrikation. (Schweizer. landwirtschaftl. Centralbl. 1896. H. 1—4; cited by Jensen. Also Vierteljahrsschr. üb. d. Forschungen a. d. Gebiete d. Chemie d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1896. Pt. 2. p. 179. Abstracted in Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 3. 1897. p. 194—195, also in Jahresber. üb. d. Fortsch. in d. Lehre v. d. Gärungsorganismen. Bd. 7. 1896. p. 193.)
2. Baumann, Fritz, Beiträge zur Erforschung der Käsereifung. (Landwirtschaftl. Versuchs-Stat. Bd. 42. 1893. p. 181—214.)
3. Beijerinck, M. W., Die Lebensgeschichte einer Pigmentbakterie. (Botan. Zeitg. Bd. 49. 1891. p. 705—712, 741—752, 757—770, 773—781.)
4. Boekhout, F. W. J. and Ott de Vries, J. J., Über die Edamerkäse-reifung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 15. 1905. p. 321—334.)
5. Burri, Robert, Über das Vorkommen relativ großer Bakterienkolonien in fehlerhaftem Emmentalerkäse. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 4. 1898. p. 608—615.)
6. Clark, Wm. Mansfield, A study of the gases of Emmental cheese. (U. S. Departm. of Agricult. Bur. of Anim. Industry Bull. 151. Washington 1912.)
7. Duclaux, E., Le lait. Études chimiques et microbiologiques. 2d éd. Paris 1894. p. 215.
8. Freudenreich, Eduard von, Über einen neuen, in geblähten Käsen gefundenen Bacillus (*Bacillus Schafferi*). (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 4. 1890. p. 17—26.)
9. — und Jensen, Orla, Über den Einfluß des Naturlabes auf die Reifung des Emmentalerkäses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 3. 1897. p. 545—553.)
10. Frost, William Dodge, The antagonism exhibited by certain saprophytic bacteria against the *Bacillus typhosus* Gaffky. (Journ. of Infect. Dis. Vol. 1. 1904. p. 599—640.)

11. Fuller, C. A., The bacterial integrity of collodion sacs. (Journ. of Infect. Dis. Vol. 7. 1910. p. 664—674.)
12. Gernez, M. D., Sur le dégagement des gaz de leurs solutions sursaturées. (Compt. rend. hebdom. d. séanc. de l'Acad. d. Scienc. T. 63. 1866. p. 883—886.)
13. Gorini, C., Sur la distribution des bactéries dans le fromage de Grana. (Rev. génér. du lait. T. 3. 1904. p. 289—293.)
14. Harrison, F. C., The distribution of lactic acid bacteria in curd and cheese of the Cheddar type. (Rev. génér. du lait. T. 5. 1906. p. 409—415.)
15. — and Connell, W. T., A comparison of the bacterial content of cheese cured at different temperatures. (Rev. génér. du lait. T. 3. 1903/04. p. 80—85, 103—111, 126—137, 150—155, 173—180.)
16. Hastings, E. G., Evans, Alice C. and Hart, E. B., Studies on the factors concerned in the ripening of Cheddar cheese. (University of Wisconsin Agricult. Exper. Stat. Research Bull. 25. Madison, Wis. 1912.)
17. Heymans, J. F., Sur la perméabilité des filtres, des ultrafiltres et des membranes dialysantes aux microbes (ultradiapédèse microbienne). (Arch. Intern. de Pharmacodyn. et de Thér. T. 22. 1912. p. 49—54.)
18. Jensen, Orla, Studien über die Lochbildung in den Emmentaler Käsen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 4. 1898. p. 217—222, 265—275, 325—331.)
19. Konradi, Emil, Forhold, vedrorende Schweizer-Oste-Produktionen, og kan denne overfores til vort Land. (Mælkeritidende. Bd. 25. 1912. p. 929—943.)
20. Löhnis, F., Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie. Berlin 1910.
22. Maggiora, Arnaldo, Über die Zusammensetzung des überreifen Käses. (Arch. f. Hyg. Bd. 14. 1892. p. 216—224.)
23. Percival, J., and Mason, G. Heather, The micro-flora of Stilton cheese. (Journ. of Agricult. Scienc. Vol. 5. Pt. 2. 1913. p. 222—229.)
24. Peter, A. and Held, J., Praktische Anleitung zur Fabrikation und Behandlung des Emmentalerkäses. 2. Aufl. Bern 1910.
25. Rodella, A., Einiges über die Bedeutung der direkten mikroskopischen Präparate für das Studium des Käsereifungsprozesses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 15. 1905. p. 143—153.)
26. Russell, H. L. and Weinzirl, John, The rise and fall of bacteria in Cheddar cheese. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 3. 1897. p. 456—467.)
27. Schaffer, F., Untersuchungen über die Lochbildung im Käse unter Anwendung der X-Strahlen. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 12. 1898. p. 379—385.)
28. Thomson, Sir William, On the equilibrium of vapour at a curved surface of liquid. (Proceed. of the Roy. Soc. of Edinburgh. Vol. 7. 1872. p. 63—68.)
29. Todd, David Duke, The bacterial integrity of celloidin and parchment membranes. (Journ. of Infect. Dis. Vol. 6. 1909. p. 369—382.)
30. Troili-Petersson, Gerda, Studien über die Mikroorganismen des schwedischen Güterkäses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 11. 1903. p. 120—143, 207—215.)
31. —, Studien über in Käse gefundene glyzerinvergärende und laktatvergärende Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 24. 1909. p. 333—342.)
32. Willows, R. S. and Hatschek, E., Surface tension and surface energy and their influence on chemical phenomena. (The Chem. World. Vol. 3. 1914. p. 146.)
33. Weigmann, H., Studien über das bei der Rahmreifung entstehende Aroma der Butter. (Milch-Zeitg. Bd. 25. 1896. p. 826—828.)
34. Wigand, A., Entstehung und Fermentwirkung der Bakterien. 1884. p. 10. (Cited by Jensen.)

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Biologie der Harnstoff vergärenden Mikroorganismen, mit besonderer Berücksichtigung der Anaërobiose.

[Mitteilung aus der schweiz. milchwirtschaftl. und bakteriolog. Anstalt Bern-Liebefeld, Vorstand: Prof. Dr. R. Burri.]

Von Dr. H. Geilinger,

zur Zeit Assistent der bakteriolog. Abteilung des schweiz. Gesundheitsamtes.

### Einleitung.

In einem größeren Teile Deutschlands, namentlich Norddeutschlands, ist es üblich, die bei der Viehhaltung sich ergebenden Abfallprodukte, Harn und Kot, mit Stroh zu vermengen und dieses Gemisch offen, d. h. ohne besonderen Schutz gegen Luftzutritt bzw. gegen das Entweichen von Ammoniak aufzubewahren bis zur Verwendung als Dünger. Daß bei diesem Verfahren große Stickstoffverluste eintreten müssen, ist einleuchtend. Nachdem sich auf Grund der Arbeiten verschiedener Agrikulturchemiker, namentlich Paul Wagners, die Erkenntnis Bahn gebrochen hatte, daß für die Stickstoffernährung die 3 Hauptbestandteile des Stallmistes ganz ungleichwertig sind, daß für diese fast ausschließlich die Umsetzungsprodukte des Harnstickstoffes in Betracht kommen, wies Soxhlet im Jahre 1893 darauf hin, daß nur durch eine — in der schweizerischen Landwirtschaft übrigens seit mehr als 100 Jahren übliche — Trennung des Harnes vom Kot und Stroh und zweckdienliche Behandlung des ersteren es möglich sein würde, eine annähernde Konservierung des Harnstickstoffes zu erreichen. Damit wurde die Zugehörigkeit des Jauchehalters zu jeder Stallanlage zum notwendigen Postulat erhoben, als unerläßliche Vorbedingung für die Erreichung des gesteckten Zieles.

Des Weiteren galt es nun, den Jauchengrubeninhalte in möglichst weitgehender Weise vor Stickstoffverlusten zu schützen. Mit dieser Aufgabe befaßten sich die Arbeiten eines praktischen Landwirts, des Rittergutsbesitzers Ortman in Schependorf, Mecklenburg. Als einschlägige Literatur standen uns 2 Flugblätter zur Verfügung (das eine ein Separatabdruck aus No. 36 der „Landwirtschaftl. Annalen“ 1910), die das Schependorfer Verfahren wiedergeben; ferner eine Arbeit von Heinrich und Mitarbeitern (11). Die Autoren gelangen zu dem Ergebnis, daß für die Harnstickstoffkonservierung hauptsächlich 2 Methoden in Betracht kommen:

1. Die Ausfällung des Jauchestickstoffes mittels sekundären Magnesiumphosphates, resp. der billigeren Salze  $MgCl_2$  und  $KH_2PO_4$ ;
2. Der Luftabschluß.

Die Versuche in Schependorf begannen mit der Filtrierung der Jauche durch Kiesfilter, Anlage großer Vorratsbehälter und Konservierung durch Gips. Aber erst als das Prinzip des Luftabschlusses in konsequenter Weise eingeführt war durch Aufstauen der geschlossenen Rohrleitungen, so daß diese ganz gefüllt waren, sowie durch luftdichte Bedeckung sämtlicher freier Flüssigkeitsoberflächen in den Zuführungskanälen und Behältern mit imprägnierten Holzdecken und Öl, wurde ein praktisch brauchbares Ergebnis erzielt.

Während früher eine häufige Reinigung der Zuleitungsröhren unerläßlich war zur Verhütung einer bald einsetzenden Verschlechterung der Jauche,

erübrigte sich nach Einführung des Abdichtungsverfahrens eine Entfernung des Sedimentes aus den Röhren. Man durfte jetzt die Röhre sich soweit mit Sinkstoffen füllen lassen, bis letztere ein mechanisches Hindernis für den Abfluß der Jauche bildeten. Die hierdurch ermöglichte Erhaltung des Stickstoffes ist außerordentlich hoch und wird durch kein anderes Konservierungsmittel erreicht.

Wie ist dieses überraschend günstige Resultat zu erklären? Handelt es sich einzig und allein um eine Behinderung der Ammoniakverdunstung? Oder werden die harnstoffhydratisierenden Mikroorganismen durch die Fernhaltung des Luftsauerstoffes in ihrer Tätigkeit beeinträchtigt? Das sind Fragen, deren Beantwortung für den Praktiker von erheblicher Wichtigkeit ist, die aber vor allem dem Bakteriologen lebhaftes Interesse abgewinnen, werfen sie doch ein neues Streiflicht auf die eigenartige Biologie der Harnstoff vergärenden Mikroorganismen.

Unsere Versuche verfolgten also einmal das Ziel, den Lebensbedingungen der Ureum spaltenden Kleinwesen, wie sie sich in der gewöhnlichen, dem Luftsauerstoff zugänglichen Jauchegrube gestalten, etwas nachzugehen, vor allem aber sollte ihr Verhalten unter gänzlich anaëroben Verhältnissen (ungefähr dem verbesserten Schependorfer Jauchebereitungsverfahren entsprechend) einer genaueren Prüfung unterzogen werden.

### Die Versuchsmikroorganismen.

#### 1. Die Anhäufungskultur.

Vor allem handelte es sich darum, in den Besitz von geeignetem Versuchsmaterial zu gelangen. Als geeignet konnten nur Mikroorganismen mit einigermaßen kräftigem Harnstoffspaltungsvermögen in Betracht kommen, da ihr Verhalten unter natürlichen Bedingungen das ausschlaggebende ist.

Zu diesem Zwecke wurde der „Anhäufungsversuch“ nach Beijerincks (1) Angaben herangezogen. Eine 10 Proz. Harnstoff enthaltende Nährbouillon wurde jeweils mit dem Ausgangsmaterial geimpft. Dann wartete man das Einsetzen einer kräftigen Harnstoffvergärung ab.

Die 10proz. Harnstoffbouillon wurde folgendermaßen bereitet: Zunächst stellte man eine Lösung von Harnstoff in destilliertem Wasser in bestimmter Konzentration her. Diese, sowie die Nährbouillon, wurden getrennt sterilisiert, hierauf bestimmte Mengen beider Flüssigkeiten mittels steriler Pipette in sterilem Kolben zusammengebracht und gemischt. Die Harnstofflösung wurde  $\frac{1}{2}$  Stunde bei  $\frac{1}{2}$  Atm. sterilisiert. Auf diese Weise läßt sich eine stärkere Zersetzung des Harnstoffes beim Sterilisieren vermeiden.

Als Ausgangsmaterial benutzten wir verschiedene Proben von Gülle, Mist und Erde. Zur Impfung wurden je ca. 20 mgr (1 große Öse) in die Harnstoffbouillonröhrchen gebracht und bei 20 oder 30° C aufgestellt.

Da wir auf kräftige Harnstoffvergärer ausgingen, durfte die anfänglich überwiegende „Vorflora“ unberücksichtigt bleiben. Diese setzt sich ja hauptsächlich aus schwachen Harnstoffpilzen zusammen. Es wurde daher abgewartet, bis durch die fortschreitende Ammonkarbonatbildung eine gewisse Unterdrückung dieser unerwünschten Organismen stattgefunden hatte. Als Kriterium für diesen Zustand der Anhäufungskultur galt die Bläuung von angefeuchtetem, in die Mündung des Röhrchens gehaltenem Lackmuspapier innerhalb 3—4 Sekunden.

## 2. Die Reinkultur.

Sobald die Ammonkarbonatentwicklung in der Anhäufungskultur so weit gediehen war, schritten wir zur Isolierung der angereicherten Kleinwesen. Es wurden 1proz. Harnstoffgelatineplatten gegossen und nach eingetretenem Wachstum von verschiedenen scheinenden Kolonien Striche angelegt auf 1proz. Harnstoffgelatine. Bevor der gewonnene Stamm weiter verarbeitet wurde, schickte man ihn ein zweites Mal durch 1proz. Harnstoffgelatineplatten; dann legte man wieder neue 1proz. Harnstoffgelatine-Striche an. Diese „Stammkulturen“ wurden dann zwecks Fortzüchtung einmal wöchentlich ohne Pasteurisierung weiter geimpft.

Anfangs beabsichtigten wir, von mehreren Vertretern der gleichen Spezies nur 1 Stamm beizubehalten, Duplikate hingegen auszuschalten. Zu diesem Behufe schickten wir der definitiven, eingehenderen, morphologisch-kulturell-funktionellen Untersuchung eine kurze entsprechende Vorprüfung voraus. Es wurden dabei besonders folgende Charakteristika berücksichtigt:

Harnstoffgelatineverflüssigung,  
Wachstumsvermögen auf gewöhnlicher Fleischgelatine,  
Sporenbildung,  
Intensität der Harnstoffvergärung.

Mehr als Nebenfunde dienten die Dimensionen der Mikroorganismen, ihre Beweglichkeit, die Merkmale der Harnstoffgelatine- und gewöhnlichen Gelatinestrichkulturen, sowie der Harnstoffgelatinestrichkulturen.

Es gelang aber aus 2 Gründen nicht, doppelte Exemplare gänzlich von unserer Serie von Versuchen fernzuhalten. Daran war einmal das recht schwankende Verhalten der Harnstoffbakterien schuld, sodann der Umstand, daß unsere Stammkulturen im Laufe der Arbeit zum Teil gewisse Abschwächungserscheinungen aufzuweisen begannen.

Was den ersten Punkt betrifft, so hängt z. B. das Gelatineverflüssigungsvermögen von nicht immer genau bestimmbareren Eigentümlichkeiten des Nährbodens ab. — Man ist nicht imstande, die Sporenbildung mit Sicherheit herbeizuführen. Um möglichst vom Zufall unabhängig zu sein, mußte daher die mikroskopische Kontrolle an verschiedenartigem Material in ausgedehntem Maße angewandt werden, außerdem war diese Untersuchung in längeren Zeitintervallen zu wiederholen. Es braucht nicht erwähnt zu werden, daß die Pasteurisierung nur im positiven Falle, d. h. wenn keine Abtötung eintritt, beweisend ist. — Endlich erlitten das Harnstoffvergärungsvermögen, die Dimensionen und die Beweglichkeit der Mikroorganismen beträchtliche Schwankungen. — Den angeführten Umständen ist es zuzuschreiben, daß die zur Zeit der Voruntersuchung scheinbar verschiedenen Stämme „Gülle a“ und „Gülle b“ sich später doch als ziemlich übereinstimmend erwiesen.

Was die Abschwächungserscheinungen anlangt, so waren wir genötigt, neue Stämme zu isolieren, um dem Vorwurfe zu begegnen, es sei mit degeneriertem Material gearbeitet worden. Dabei war eine eventuelle Identität der neuen Stämme mit den alten gerade erwünscht rücksichtlich der unmittelbaren Vergleichbarkeit.

Das eigenartige Verhalten der Gruppe beim Fehlen des Luftsauerstoffes veranlaßte dann eine dritte, größere Serie von Isolierungen, wobei wir zu weiteren Duplikaten gelangten. Gerade das anaërobe Verhalten gab zu erkennen, daß morphologisch-kulturell scheinbar identische Stämme sich

doch divergierend verhalten können in bezug auf eine wichtige biologische Funktion.

Die Ausführung der Versuche fand also in 3 Etappen statt: Zuerst wurden 24 Stämme reingezüchtet, davon 5 für die eingehende Untersuchung reserviert; dann 10 weitere Stämme isoliert, davon 3 weitergeprüft; endlich wurden 57 Stämme reingezogen, aber nur die 3 anaërob wachsenden unter ihnen näher charakterisiert.

### 3. Die Charakterisierung der Versuchsorganismen.

#### a) Vorbemerkungen.

Um gut bewegliche Stäbchen zu finden, benutzt man nach unseren Erfahrungen am besten 1proz. Harnstoffbouillon. Auf 1proz. Gelatine scheint die Lokomotion schon seltener einzutreten, noch ungünstiger verhalten sich die übrigen Nährsubstrate. Immerhin fanden sich gelegentlich auch bewegliche Stäbchen sogar im hitzesterilisierten Kuhharn. Die Temperatur von 30° C scheint der Beweglichkeit günstiger zu sein als diejenige von 20° C. Was das zeitliche Optimum anbelangt, so wollen wir uns darauf beschränken, anzugeben, daß in 8—14 Tage alten 1proz. Bouillonkulturen meistens viele intensiv bewegliche Stäbchen gefunden wurden, daß in diesem Medium aber auch nach 2 Monaten die Beweglichkeit noch keine Abnahme aufzuweisen braucht.

Was die Stäbchen zur Sporenbildung veranlaßt, konnte nicht eruiert werden. Wir machten einige Pasteurisierungsversuche, um die Widerstandsfähigkeit der Sporen zu prüfen, und fanden z. B., daß die Sporen von „E r d e M ü n s i n g e n“, „G ü l l e b“ und „P a r z e l l e 93“ eine einstündige Einwirkung von 80° C zu ertragen vermögen.

Unter der Bezeichnung „Gewöhnliche Gelatine“, „Fleischgelatine“ usw. wird in Folgendem jeweilen „keinen Harnstoff enthaltende“ Gelatine usw. verstanden. Die harnstofffreien Nährmedien wurden nicht speziell alkalisiert, sondern wiesen die für die allgemein gebräuchlichen Nährsubstrate verwendete Alkalität von 0,2—0,3 Proz. Kristallsoda auf. Wenn auch die Harnstoff enthaltenden Nährböden nicht besonders stark alkalisiert wurden, so reagierten sie doch etwas stärker alkalisch, infolge geringfügiger Zersetzung, die der Harnstoff doch auch in wässriger Lösung beim Sterilisieren erleidet. Die Alkalität der Harnstoffmedien schwankte zwischen 0,45 und 1,35 Proz. Kristallsoda, betrug in den meisten Fällen 0,45—0,75 Proz. [0,15 Proz. Kristallsoda brauchen 0,1 ccm.  $\frac{1}{10}$  Normalsäure pro 1 ccm zur Neutralisation; nach H e i m (10)].

Zur Herstellung der Milchkulturen wurden 10 ccm sterile Milch enthaltende Reagenzröhrchen je mit 0,1 ccm einer 24stündigen, 1proz. Harnstoffbouillonkultur geimpft. Die Kulturen wurden bei 30° C aufgestellt, wöchentlich auf ihre Reaktion geprüft. Nach Verlauf 1 Monats wurde ferner auf Indolgehalt untersucht mittels des E h r l i c h - B ö h m e s c h e n Reagens (8).

Bei sämtlichen Stämmen konnte oft das von B e i j e r i n c k (2) beschriebene, zierliche Phänomen der „Iriserscheinung“ beobachtet werden, obwohl nie Hefewassergelatine, sondern immer die gewöhnliche Fleisch-extraktpeptongelatine mit Harnstoffzusatz zur Verwendung kam.



b) Beschreibung der morphologischen und kulturellen Eigenschaften der Versuchorganismen.

„Gülle a“.

**Form und Größe:** Schlanke Stäbchen mit abgerundeten Polen, im Kettenverbande auch mit deutlichen Ecken, hie und da etwas keil- oder spindelförmig, vorwiegend einzeln oder zu zweien, seltener in Ketten mit geknickter Axe; daneben oft Fäden.  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$  dick, Involutionenformen auch 1  $\frac{1}{4}$   $\mu$  dick; 1  $\frac{1}{2}$ —5—10  $\mu$  lang, bei Fadenbildung 30 bis 100 und mehr  $\mu$  lang.

**Beweglichkeit:** Sie kann intensiv sein, fehlt aber oft gänzlich.

**Färbbarkeit nach Gram:** Positiv.

**Sporenbildung** vorhanden. Sporen endständig kugelig, Durchmesser 1  $\mu$  betragend; sie treiben das Stäbchen ein wenig auf, eine deutliche Plectridienform bildend.

**Gewöhnliche Gelatineplatte:** Nach 9 Tagen noch kein Wachstum beobachtet. Nach 14 Tagen: 2 Typen von Oberflächenkolonien: a) Solche mit kleinerem Durchmesser ( $\frac{1}{3}$ —1 mm); makroskopisch rund, scharfrandig, erhaben, porzellanartig, glänzend. Mikroskopisch glattrandig, von körniger Struktur. b) Solche mit größerem Durchmesser (1—2 mm); makroskopisch mit dickerem und dichterem Zentrum und zarter, blattartiger Peripherie, Rand nicht deutlich abgegrenzt, rund. Farbe gelblich bis graulich. Mikroskopisch mit unregelmäßig gelapptem Rand, Zentrum dunkler, von granulierter Struktur, Peripherie durchscheinend mit verschiedenartig gekrümmten, vorwiegend radiär verlaufenden Rissen und Rillen.

Keine Verflüssigung.

**Tiefenkolonie** mikroskopisch von kreisrundem, scharfem Kontur und körniger Struktur.

**1-proz. Harnstoffgelatineplatte:** Nach zwei Tagen ist bereits von bloßem Auge sichtbares Wachstum eingetreten. Durchmesser der Oberflächenkolonien bis zu  $\frac{1}{3}$  mm. Makroskopisch rundlich, nicht deutlich scharfrandig, gelblich, von einer Kristallaureole umgeben. Mikroskopisch: Für Licht wenig durchlässig, der Rand ist auch jetzt nicht ganz scharf, dicht von Kristallen über- und umlagert, die Randpartien bei durchfallendem Licht braun. Ein Teil der Kolonien zeigt ein bis mehrere, mehr oder weniger radiär abgehende, gerade oder korkzieherartig gewundene, haarbüschelförmige Ausläufer. Nach 6 Tagen sind zwei Typen von Oberflächenkolonien zu unterscheiden: a) Solche mit kleinerem Durchmesser (ca.  $\frac{1}{3}$  mm); makroskopisch scharf berandet, rundlich, gelblich, kuppelig prominierend, glänzend. Mikroskopisch granuliert, ziemlich scharfrandig, oft mit konzentrischen Zeichnungen. b) Solche mit größerem Durchmesser (2—4 mm). Makroskopisch: Ein solides Zentrum von der Beschaffenheit des kleinen Typus a wird umgeben von einer gelbgrauen Scheibe mit undeutlichem Kontur. Mikroskopisch: Zentrum hat den Typus a, die Peripherie besteht aus einem mehr oder weniger radiär angeordneten Netzwerk von haarartigen Ausläufern.

Keine Verflüssigung.

Es scheint, als ob auch die Tiefenkolonien den Typus b zum Teil annähmen.

Nach 11 Tagen: Typus a. Oberflächenkolonien haben  $\frac{1}{2}$ —2 mm Durchmesser, sind mikroskopisch immer noch scharf berandet, hie und da mit einer feinen Zacke oder Einbuchtung, von körniger Struktur, mit radiären und konzentrischen Rillen. Das Zentrum wenig Licht durchlassend, schollig. Typus b. Oberflächenkolonien haben 5—7 mm Durchmesser. Makroskopisch: Zentrum gelblich, Peripherie durchscheinend, radiär strukturiert mit verschwommener Zeichnung. Oberhalb der Kolonien ist die Gelatine eingesunken in Form einer Delle. Doch scheint es sich mehr um Erweichung als um eigentliche Verflüssigung zu handeln. Mikroskopisch: Der Rand ist mit Zilien besetzt oder ein eigentlicher Rand ist nicht mehr vorhanden, sondern die Kolonie löst sich peripheriewärts in lange, zarte Ausläufer auf.

Ferner ergibt die mikroskopische Durchmusterung der Platte zahlreiche Kolonien, in denen der Typus a und b in mannigfaltiger Weise kombiniert vertreten ist.

**Gewöhnlicher Gelatinestrich:** Kein Wachstum.

**1-proz. Harnstoffgelatinestrich:** Kräftiger, weißgelber Faden. In der Gelatinesäule überall Kristalle. Oben vom Faden senkrecht abgehend feine Ausläufer, die sich bis zu 8 mm verlängern. Dann tritt langsame Verflüssigung ein, zuerst in Form einer seichten Delle, die dann immer tiefer und breiter wird. Nach 27 Tagen ist die Exkavation 1,25 cm tief und hat 1 cm Durchmesser.

**1-proz. Harnstoffgelatinestrich:** Nach 10 Tagen ist das Wachstum längs dem Strich kräftig, auf beiden Seiten desselben je ein schmales, zartes Band mit gekerbter Peripherie. Im Strichbereich ist die Gelatine etwas erweicht. Nach

18 Tagen entstehen im unteren Drittel des Striches zarte quere Ausläufer. Nach 4 Tagen bereits gute Entwicklung der Kristalle.

Gewöhnlicher Agarstrich: Bei 30°: Kräftiges Wachstum längs dem Strich, auch etwas in die Breite. Rand leicht gekerbt. Nach 8 Tagen quere Ausläufer, die bis zum Glasrand wachsen. Farbe des Striches gelblichgrau.

Dextroseagarstrich: Bei 30° kein Wachstum.

Gewöhnliche Bouillon: (Bei 20°.) Zuerst einige Tage klar bleibend unter Bildung eines flockigen, zarten Bodensatzes, der nach und nach kräftiger wird. Die Bouillon trübt sich jetzt auch etwas.

1-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 20 und 30°.) Nach einigen Tagen ist die Bouillon getrübt, innerhalb der Trübung sind aber hellere Zonen bemerkbar. Oben hat sich ein zartes Häutchen gebildet. Später entsteht ein Bodensatz, der schließlich zähschleimige Konsistenz annimmt.

10-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 20 und 30°.) Nach einigen Tagen tritt eine schwache Trübung auf, die nach einigen weiteren Tagen sehr deutlich hellere Zonen aufweist. Später wird die Bouillon wieder klarer unter Bildung eines Bodensatzes von fädiger Struktur.

Milch: Bei 20 und 30°. Selbst nach 7 Wochen keine deutliche Veränderung. Reaktion amphoter, kein Indol.

Kartoffel: Bei 20 und 30° nach 3 Wochen trotz wiederholter Impfungen kein Wachstum.

#### „Gülle b“.

Form und Größe: Schlanke Stäbchen mit abgerundeten Polen, in Kettenverbänden auch mit ziemlich deutlichen Ecken, auch Keil- und Spindelformen sind hie und da schwach ausgeprägt zu bemerken. Vorwiegend einzeln oder zu zweien, manchmal in kürzeren Ketten, öfters Fäden.  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$  dick, hie und da Involutionsformen mit  $\frac{1}{2}$  oder  $1\frac{1}{4}$   $\mu$  Dicke; 1—5—10  $\mu$  lang, Fäden bis über 100  $\mu$  lang.

Beweglichkeit: Bald intensiv, bald schwach bis fehlend.

Färbbarkeit nach Gram: Positiv.

Sporenbildung vorhanden. Sporen endständig, kugelig, mit 1  $\mu$  Durchmesser, das Stäbchen etwas auftreibend.

Gewöhnliche Gelatineplatte: Nach 14 Tagen noch kein Wachstum.

1-proz. Harnstoffgelatineplatte: Die Kolonien zeigen mit denjenigen von „Gülle a“ beinahe vollständige Übereinstimmung. Etwas abweichend verhielt sich der Typus b nach 11 Tagen: Makroskopisch: Zentrum dick, gelblich, rund, glattrandig oder gezackelt, 2—3 mm Durchmesser, Peripherie durchscheinend, zart, mit scharfem Rand, der glatt und kreisrund ist. Innerhalb der peripheren Zone sind mehrere durchscheinende konzentrische Ringe bemerkbar, 5—7 mm Durchmesser. Mikroskopisch zeigen sich ungefähr dieselben Verhältnisse wie bei „Gülle a“.

Gewöhnlicher Gelatinestich: Kein Wachstum.

1-proz. Harnstoffgelatinestich: Kräftiger, weißgelber Faden. In der Gelatinesäule überall Kristalle. Zeitweise längs dem Stich opake Trübungen. Oben feine seitliche Ausläufer. Ferner bildet sich hier eine deutliche Auflage mit ca. 1 cm Durchmesser und gefranstem Rand. Nach 11 Tagen ist auch hier eine Delle zu beobachten, dann setzt die Verflüssigung langsam ein. Nach 27 Tagen hat auch hier die Exkavation eine Tiefe von 1 cm erreicht.

1-proz. Harnstoffgelatinestrich: Wie bei „Gülle a“.

Gewöhnlicher Agarstrich: Bei 30°. Ganz ähnlich wie bei „Gülle a“. Quere Ausläufer sind hier nicht zu beobachten, hingegen ziemlich starke Ausbuchtungen des gekerbten Randes.

Dextroseagarstrich: Bei 30° kein Wachstum.

Gewöhnliche Bouillon: (Bei 20°.) Erst nach einigen Wochen tritt stärkere Trübung auf, dann Bildung eines zähschleimigen Bodensatzes.

1-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 20 und 30°.) Wie bei „Gülle a“.

10-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 20 und 30°.) Wie bei „Gülle a“.

Milch: (Bei 20 und 30°.) Wie bei „Gülle a“.

Kartoffel: Wie bei „Gülle a“.

#### „Gülle c“.

Form und Größe: Schlanke Stäbchen mit abgerundeten Polen, hie und da Involutionsformen, wobei die Stäbchen verkrümmt sind, Auftreibungen aufweisen. Vorwiegend einzeln oder zu zweien, öfters Fadenbildung. Durchschnittliche Dicke  $\frac{3}{4}$  bis

1  $\mu$ . Es kommen aber hie und da Stäbchen mit  $\frac{1}{2}$ , andererseits solche mit  $1\frac{1}{4}$   $\mu$  Dicke zur Beobachtung. Länge  $1\frac{1}{2}$ —3—5—8  $\mu$ ; die Fäden oft über 100  $\mu$  lang.

Beweglichkeit: Bald intensiv, bald schwach bis fehlend.

Färbbarkeit nach Gram: (Schwach) positiv.

Sporenbildung: War nur in vereinzelten Fällen nachzuweisen. Die Sporen nahmen eine Mittelstellung ein zwischen endständig und mittelständig. Durchmesser ca. 1  $\mu$ , das Stäbchen wird etwas aufgetrieben.

Gewöhnliche Gelatineplatte: Nach 3 Tagen bereits sichtbares Wachstum. Oberflächenkolonien makroskopisch: rund, scharfrandig, grau, kuppelförmig erhaben, glänzend, größer als die Tiefenkolonien, nach 6 Tagen mit  $\frac{1}{8}$  mm Durchmesser und beginnender Verflüssigung, nach 9 Tagen mit 2—8 mm Durchmesser. Innerhalb der Verflüssigungsschale sind bei einigen Kolonien konzentrische Streifungen von gelblicher Farbe bemerkbar. Konsistenz der verflüssigten Gelatine nicht fadenziehend. Mikroskopisch sind die Oberflächenkolonien rund, gleichmäßig granuliert; einzelne radiär verlaufende Rillen sind angedeutet. Der Rand ist mit zilienartigen Ausläufern besetzt. Tiefenkolonien makroskopisch: rund, scharfrandig, gelblichgrau, mikroskopisch: rund bis rundlich, scharfrandig, gleichmäßig gekörnt.

1-proz. Harnstoffgelatineplatte: Oberflächenkolonien makroskopisch: Nach 4 Tagen haben sie  $\frac{1}{3}$  mm oder 1—5 mm Durchmesser. Die ersten verflüssigen noch nicht, wohl aber die letzteren. Nach 11 Tagen 12 mm Durchmesser. Sämtliche Kolonien rund, scharfrandig, gelblich; die großen Kolonien schalenartig verflüssigend. Die verflüssigte Gelatine ist nicht fadenziehend. Innerhalb der Verflüssigungsschale zentral und in peripheren, konzentrischen Ringen gelbliche Flocken. Außerhalb der Verflüssigungszone eine seidenartig glänzende, gelbliche Randpartie. Mikroskopisch: Dunkles, scholliges Zentrum mit unregelmäßig buchtiger Begrenzung; granuliert Randpartie, darin oft konzentrische Schattierungen und radiäre hellere Rillen. Rand scharf, später verschwommen, mit oder ohne kürzeren oder längeren zarten Ausläufern. Innerhalb und in der Umgebung der Kolonien viele strahlig angeordnete Kristalle. Tiefenkolonien makroskopisch: ca.  $\frac{1}{3}$  mm Durchmesser, rund, scharfrandig, gelblich.

Gewöhnlicher Gelatinestich: Nach 2 Tagen bereits kräftiges Wachstum mit beginnender Verflüssigung. Nach 5 Tagen ist die Exkavation 4 mm, nach 13 Tagen 1 cm tief. Nach 50 Tagen ist die Hälfte der Gelatine verflüssigt. Innerhalb der verflüssigten Partie bilden sich fortwährend zuerst schwimmende, dann untersinkende Häutchen.

1-proz. Harnstoffgelatinestich: Wachstum des Stichfadens zuerst oben freudiger, später überall gleichmäßig, kräftig. Die Verflüssigung setzt schon nach 2 Tagen ein, erreicht nach 7 Tagen 4 mm, nach 13 Tagen 10 mm, nach 27 Tagen 2 cm Tiefe. Nach wenigen Tagen Kristallbildung, oben beginnend; unten zuerst opake Trübung längs dem Stichkanal, dann auch Kristallbildung unter Verschwinden der Trübung. Seitliche Ausläufer längs des ganzen Stiches, oft in kleinen Büscheln zusammenstehend, einige mm lang.

1-proz. Harnstoffgelatinestrich: Nach 2 Tagen kräftiges, auf den Strich beschränktes Wachstum. Nach 4 Tagen ist der ganze Strich infolge jetzt kräftig einsetzender Verflüssigung ziemlich stark eingesunken. Gute Kristallausfällung. Nach 18 Tagen ist die Verflüssigungsrinne 1 cm breit, die Gelatine zum größten Teil verflüssigt.

Gewöhnlicher Agarstrich: (Bei 30°.) Kräftiges Wachstum längs dem Strich, sowie in die Breite. Rand leicht gekerbt und in regelmäßigen Abständen mit tieferen Einschnitten. Die seitlichen Partien durchscheinend. Farbe gelbgrau. Nach 10 Tagen erreicht der Rasen die Glaswand.

Dextroseagarstrich: (Bei 30°.) Wie der Strich auf gewöhnlichem Agar, nur ist das Wachstum verlangsamt.

Gewöhnliche Bouillon: (Bei 20°.) Nach 2 Tagen starke Trübung. Es beginnt sich ein Bodensatz zu bilden, der bald sehr reichlich vorhanden ist. Er hat zähschleimige Konsistenz. Ferner sind Ansätze zu Kahmhautbildung vorhanden.

1-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 20 und 30°.) Nach einigen Tagen zarte Trübung, etwas später sind darin einige hellere Zonen zu konstatieren. An der Glaswand sind Ansätze zu Hautbildung vorhanden, doch kommt es nie zur Ausbildung einer vollständigen Kahmhaut. Im Verlauf einiger Wochen wird die Trübung sehr intensiv, es bildet sich ein reichlicher Bodensatz von zähschleimiger Konsistenz. Die Glaswandung ist im Bereich der Bouillon getrübt, wie von einem Kulturüberzug bedeckt.

10-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 20 und 30°.) Es gehen nicht alle Kulturen an. Auch bei denjenigen, die später gute Entwicklung zeigen, verstreicht

eine lange „Inkubationszeit“. Eine Kultur ergab während 16 Tagen kein Wachstum, auch titrimetrisch konnte keine Reaktionsänderung nachgewiesen werden. Am 21. Tage hatte die Alkalität erheblich zugenommen und jetzt war eine leichte Trübung zu bemerken. Es bildete sich dann ein geringer Bodensatz von fädiger Struktur.

Milch: (Bei 20 und 30°). Keine deutliche Veränderung. Reaktion amphoter. Kein Indol.

Kartoffel: (Bei 20 und 30°). Kein Wachstum.

#### „Erde a“.

Form und Größe: Meist schlanke Stäbchen mit abgerundeten Polen, öfters Involutionsformen mit Verkrümmung und abweichender Dicke der Stäbchen. Sowohl einzeln, als auch in Ketten (mit gebrochener Axe) und Fäden. Durchschnittliche Dicke  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$ , nicht selten aber auch  $\frac{1}{2}$  oder  $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$   $\mu$ . Länge  $1\frac{1}{2}$ —3—5—10  $\mu$ . Die Fäden manchmal über 100  $\mu$  lang.

Beweglichkeit: Meist fehlend, hie und da aber kräftig.

Färbbarkeit nach Gram: Positiv.

Sporenbildung: Vorhanden. Sporen nehmen eine Mittelstellung ein zwischen end- und mittelständig. Durchmesser ca. 1  $\mu$ ; das Stäbchen wird etwas aufgetrieben.

Gewöhnliche Gelatineplatte: Nach 14 Tagen noch kein Wachstum.

1-proz. Harnstoffgelatineplatte: Oberflächenkolonien makroskopisch: Der Durchmesser beträgt nach 6 Tagen ca.  $\frac{1}{4}$  mm, nach 11 Tagen 4—10 mm. Die Kolonien sind rund, glatt und scharfrandig, graugelb, erhaben, glänzend, von Kristall-aureole umgeben. Sie erweichen die Gelatine, ohne sie eigentlich zu verflüssigen. Es lassen sich ein Zentrum und eine periphere Zone unterscheiden. Ersteres hat runde Begrenzung, ist gelblich, der Rand entweder aufgefranst oder gezackt. Die periphere Zone ist etwas durchlässig für Licht. Mikroskopisch: Rund, scharfrandig, mit konzentrischen hellen Ringen. Das Zentrum ist granuliert, die periphere Zone zeigt radiär verlaufende, verschlungene Faserung. Tiefenkolonien makroskopisch: ca.  $\frac{1}{4}$  mm Durchmesser, rund, glattrandig, graugelb. Mikroskopisch: Rund, scharfrandig, granuliert.

Gewöhnlicher Gelatine-Stich: Kein Wachstum.

1-proz. Harnstoffgelatine-Stich: Nach 2 Tagen hat sich ein kräftiger, grauweißer Faden entwickelt. In seiner Umgebung überall Kristalle. Etwas später bildet sich eine durchscheinende, zarte Auflage mit gefranstem Rand, ferner im obersten Viertel des Fadens zarte seitliche Ausläufer. Nach 13 Tagen ist im Zentrum der Auflage eine kleine Delle bemerkbar, nach 4 Wochen ist eine Exkavation von 1 cm Tiefe entstanden.

1-proz. Harnstoffgelatine-Strich: In den ersten 5 Tagen auf den Strich beschränktes, kräftiges Wachstum, nach einer Woche sind einige seitliche, bäumchenförmige Ausläufer im untersten Teile des Striches entstanden. Nach 10 Tagen beginnt sich unten ein breiteres Band mit gezähntem Rande zu bilden. Die Kristallbildung hat schon am 2. Tage eingesetzt.

Gewöhnlicher Agar-Strich: (Bei 30°). Nach 7 Tagen ist das Wachstum noch recht dürtig, längs dem Strich sind schleierartige graue Kolonien aufgegangen; nach 10 Tagen sind die Kolonien kräftig entwickelt, zum Teil miteinander verschmolzen, von gelbbrauner Farbe.

Dextrose-Agar-Strich: (Bei 30°). Kein Wachstum.

Gewöhnliche Bouillon: (Bei 20°). Kein Wachstum.

1-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 20 und 30°). Nach 2 Tagen ist die Bouillon getrübt, innerhalb der Trübung sind hellere Zonen zu beobachten. Es bildet sich ein Bodensatz, der nach 14 Tagen noch spärlich ist, nach 2 Monaten an Menge bedeutend zugenommen und zäh-schleimige Beschaffenheit angenommen hat. Kahlhautbildung wurde nicht bemerkt.

10-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 20 und 30°). Kein Wachstum.

Milch: (Bei 20 und 30°). Keine deutliche Veränderung. Reaktion amphoter. Kein Indol.

Kartoffel: (Bei 20 und 30°). Kein Wachstum.

#### „Erde b“.

Form und Größe: Ziemlich dicke Stäbchen mit abgerundeten, in Kettenverbänden auch eckigen Polen. Vorwiegend einzeln oder zu zweien, seltener Bildung von Ketten oder von Fäden. Dicke meist 1— $1\frac{1}{4}$   $\mu$ , ab und zu  $\frac{3}{4}$   $\mu$ . Länge  $1\frac{1}{2}$ —3—5—10  $\mu$ . Fäden bis 50  $\mu$ .

Beweglichkeit: War nicht nachweisbar.

**Färbbarkeit nach Gram:** (Schwach) positiv.

**Sporenbildung:** War nie sicher nachweisbar. In einigen Fällen waren sehr deutliche polare Granula zu beobachten, welche die Stäbchen nicht auftrieben.

**Gewöhnliche Gelatineplatte:** Nach 3 Tagen bereits von bloßem Auge sichtbares Wachstum. Oberflächenkolonien makroskopisch: rund, scharfrandig, graugelb, kuppelig erhaben, glänzend, nach 9 Tagen ist das Zentrum undurchsichtig, gelblich, von einer durchscheinenden, graulichen Zone umgeben. Durchmesser nach 6 Tagen 1 mm, nach 9 Tagen 1—2 mm betragend. Konsistenz teigig, schwach fadenziehend. Keine Verflüssigung. Mikroskopisch sind die Oberflächenkolonien rund, scharfrandig und beinahe glattrandig, granuliert, mit dunklerem Zentrum, hellerer Zwischenzone und dunkler Randzone. Noch einige Tage später (nach 9 Tagen) sind innerhalb der Kolonien mehrere konzentrische helle Ringe zu beobachten, außerdem eine radiäre Faserung. Die Tiefenkolonien sind rund, scharfrandig, graugelb, haben nach 6 Tagen  $\frac{1}{4}$  mm, nach 9 Tagen  $\frac{1}{2}$  mm Durchmesser. Sie unterscheiden sich mikroskopisch nicht wesentlich von den Oberflächenkolonien.

**1-proz. Harnstoffgelatineplatte:** Nach 2 Tagen von bloßem Auge sichtbares Wachstum eingetreten. Kristalle bereits gebildet. Nach 5 Tagen beträgt der Durchmesser der Oberflächenkolonien ca. 1 mm, derjenige der Tiefenkolonien ca.  $\frac{1}{3}$  mm. Aussehen der 5 Tage alten Kolonien makroskopisch: rundlich, scharfrandig, gelbgrau, Zentrum undurchsichtiger als die Peripherie, mikroskopisch: radiärstrahlig-schollige Struktur, an Kristalldruse erinnernd.

Nach 11 Tagen sind zwei Typen von Oberflächenkolonien ausgebildet: a) Solche mit kleinerem Durchmesser (ca. 1—3 mm); makroskopisch rund, scharfrandig, dabei glattrandig oder mit gezahntem Rand, gelblich, mikroskopisch zeigt sich wieder die radiärstrahlig-schollige Struktur, der Rand zeigt in kleinen Abständen seichtere und tiefere Einschnitte, ist sonst aber glatt. b) Solche mit größerem Durchmesser (ca. 8—10 mm); makroskopisch: Das Zentrum hat die Beschaffenheit der unter Typus a charakterisierten Kolonien. Dieses wird von einer durchscheinenden Randzone umgeben, die strukturloses Aussehen hat oder radiär gestreift ist. Der Rand ist mehr weniger scharf oder aufgefranst; mikroskopisch erweist sich das Zentrum als eine Kolonie vom Typus a, umgeben von einem Kranze langer, gelockter, zu Bündeln mehr weniger vereinigter, radiär verlaufender Fäden oder aber von radiären Ketten, bestehend aus mehr weniger ovoiden, zierlichen, blattähnlichen Gebilden. Ferner sind verschiedenartige Kombinationen von Typus a und b zu finden.

**Keine Gelatineverflüssigung.**

**Gewöhnlicher Gelatine-Stich:** Nach 2 Tagen hat sich ein kräftig entwickelter, grauweißer Faden gebildet. Nach 5 Tagen ist eine rundlich-eckige, glänzende Auflage von 3—4 mm Durchmesser zu beobachten. Nach 14 Tagen beträgt ihr Durchmesser 12 mm. Nach 3 Wochen erreicht sie die Glaswand. Ihr Rand ist jetzt gezahnt. Keine Verflüssigung.

**1-proz. Harnstoffgelatine-Stich:** Nach 2 Tagen starker, gleichmäßig entwickelter Faden, oben sind bereits Kristalle bemerkbar. Eine 3 mm Durchmesser fassende Auflage mit stark zerklüftetem Rande ist ebenfalls schon ausgebildet. Nach 7 Tagen beginnen sich oben seitliche Ausläufer zu bilden, die innerhalb der folgenden 2 Wochen die Glaswand erreichen, auch an Zahl fortwährend zunehmen, indem sich unten immer neue an die schon vorhandenen anfügen. Hingegen hat die Auflage nicht an Dimension zugenommen. Keine Verflüssigung.

**1-proz. Harnstoffgelatine-Strich:** Das Wachstum bleibt auf den Strich beschränkt. Dieser entwickelt sich innerhalb 2 Tagen kräftig; in dieser Zeit findet auch Kristallbildung statt. Nach einigen Tagen ist der Strich ziemlich prominent, grauweiß, glänzend, am Rande fein gekerbt. Hier sind einzelne kleine, knopfartige Vorrugungen zu notieren, Ansätze zu seitlichen Ausläufern, die sich jedoch nicht weiter entwickeln. Gelatineverflüssigung oder -erweichung findet nie statt.

**Gewöhnlicher Agar-Strich:** (Bei 30°). Kräftiges, langsam in die Breite progredierendes Wachstum. Nach 17 Tagen ist der Strich einige Millimeter breit, graugelb, am Rande fein gekerbt, vom Rande gehen sehr zarte, bäumchenförmige, seitliche Ausläufer ab.

**Dextrose-Agar-Strich:** (Bei 30°). Ebenfalls freudiges Wachstum. Nach 4 Tagen zeigt der Rand neben feinen mehrere größere Ausbuchtungen. Nach weiteren 6 Tagen haben sich diese mit Tochterausbuchtungen umgeben. Endlich schreitet so das Seitenwachstum bis zur Glaswand vor.

**Gewöhnliche Bouillon:** (Bei 20°). Nach 2 Tagen ist die Bouillon schwach getrübt. Nach 10 Tagen hat sich ein reichlicher Bodensatz von fetzig-bröckeliger Struktur gebildet.

1-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 20 und 30°). In der Trübung sind anfangs einige hellere Zonen angedeutet. Nach 14 Tagen sind Ansätze zur Bildung einer Kahlhaut zu bemerken. Diese ist jedoch auch nach 2 Monaten nicht kontinuierlich ausgebildet. Der Bodensatz ist flockig, später zäh-schleimig.

10-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 20 und 30°). Kein Wachstum.

Milch: (Bei 20 und 30°). Keine deutliche Veränderung. Reaktion amphoter, kein Indol.

Kartoffel: (Bei 20 und 30°). Kein Wachstum.

#### „Erde Münsingen“.

Form und Größe: Schlanke Stäbchen mit abgerundeten Polen, vorwiegend einzeln oder zu zweien, daneben auch in kürzeren Ketten und häufig als Fäden. Durchschnittliche Dicke  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$ , ab und zu auch  $\frac{1}{2}$  oder  $1\frac{1}{4}$   $\mu$ . Länge 1—5—10  $\mu$ . Die Fäden werden über 100  $\mu$  lang.

Beweglichkeit: Intensiv bis gänzlich aufgehoben.

Färbbarkeit nach Gram: Positiv.

Sporenbildung: Vorhanden. Die Sporen sind etwas wechselnd in ihrer Stellung, bald polar, bald eine Mittelstellung zwischen dem einen Ende und der Mitte des Stäbchens einnehmend. Sie treiben das Stäbchen ein wenig auf (Durchmesser durchschnittlich  $1:1\frac{1}{4}$   $\mu$ ) und bedingen so bald Plectridium-, bald Clostridiumformen. Form elliptisch.

Gewöhnliche Gelatineplatte: Kein Wachstum.

1-proz. Harnstoff-Gelatineplatte: Nach 3 Tagen beträgt der Durchmesser der Kolonien  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  mm. Um jede Kolonie ist die Gelatine leicht gedellt. Kristalle sind bereits ausgebildet. Nach 8 Tagen beträgt der Durchmesser der Oberflächenkolonien  $1\frac{1}{2}$ , nach 14 Tagen 2 mm; derjenige der Tiefenkolonien nach 8 Tagen  $\frac{1}{2}$ —1, nach 14 Tagen 1 mm. Die Oberflächenkolonien sind makroskopisch grob granuliert, das Zentrum etwas dicker, die Peripherie sehr durchscheinend, der Rand oft nicht scharf begrenzt, gewellt und zerklüftet; die Kolonie ist graugelb. Mikroskopisch granuliert, mit regellosem Gefüge, am Rande rosenkranzförmige Reihen von Tochterkolonien, die die Mutterkolonie konzentrisch umgeben. Die Tiefenkolonien sind rund, scharf und glattrandig, gelb. Mikroskopisch glatt oder gezähnt-randig, granuliert. Auch nach 14 Tagen ist keine eigentliche Verflüssigung eingetreten.

Gewöhnlicher Gelatine-Stich: Kein Wachstum.

1-proz. Harnstoffgelatine-Stich: Nach 2 Tagen kräftiger, gleichmäßig entwickelter Faden mit dicht stehenden, 1 mm langen seitlichen Ausläufern von weißgrauer Farbe. Die Kristallbildung ist bereits eingetreten. Nach 5 Tagen sind im obersten Teil des Fadens die seitlichen Ausläufer bis zu 5 mm Länge gewachsen, nach 11 Tagen haben sie dort die Glaswand erreicht. Auch nach 4 Wochen keine Verflüssigung. Eine Auflage wird nicht gebildet.

1-proz. Harnstoffgelatine-Strich: Nach 3 Tagen kräftig entwickelter, weißgrauer Strich, Kristallbildung. Auch nach einigen weiteren Tagen ungefähr dasselbe Bild: Mattglänzender, etwas durchscheinender, am Rande fein gekerbter Strich. Kein Seitenwachstum, keine Gelatineverflüssigung.

Gewöhnlicher Agarstrich: (Bei 30°). Es tritt nur kümmerliches Wachstum ein: Nach 7 Tagen längs dem Strich etwa 6 durchscheinende, rundliche, graue Kolonien von  $\frac{1}{2}$  mm Durchmesser, die sich nicht weiter entwickeln.

Dextrose-Agarstrich: (Bei 30°). Kein Wachstum.

Gewöhnliche Bouillon: (Bei 20°). Kein Wachstum.

1-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 20°). Nach 3 Tagen ist bereits kräftige Entwicklung eingetreten: Gefaltete Kahlhaut, Trübung der Bouillon, an der Glaswand haftende Kristalle, reichlicher Bodensatz, beim Aufwirbeln sich leicht zerteilend. Von nun an bilden sich nach dem Untersinken der alten fortgesetzt neue Kahlhäute.

10-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 20°). Freudiges Wachstum. Nach 3 Tagen intensive Trübung, einzelne wandständige, große Kristalle. Später bildet sich ein beim Schütteln sich leicht zerteilender Bodensatz.

Milch: (Bei 30°). Keine deutliche Veränderung. Reaktion amphoter, kein Indol.

Kartoffel: (Bei 20 und 30°). Kein Wachstum.

#### „Gülle 3121“.

Form und Größe: Schlanke Stäbchen mit abgerundeten Polen, vorwiegend einzeln oder zu zweien, daneben in kurzen Ketten und als Fäden. Durchschnittliche

Dicke  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$ , selten wurden noch etwas dünnere ( $\frac{1}{2}$   $\mu$ ) und dickere (1  $\frac{1}{4}$   $\mu$ ) Formen beobachtet. Länge 1  $\frac{1}{2}$ —5—10  $\mu$ . Die Fäden bis 30  $\mu$  lang.

**Beweglichkeit:** Intensiv bis gänzlich fehlend.

**Färbbarkeit nach Gram:** Positiv.

**Sporenbildung:** vorhanden. Die Sporen variieren in ihrer Stellung, sind bald endständig, bald mehr der Mitte genähert. Sie treiben das Stäbchen ein wenig auf, Plectridien bis Clostridien bildend. Sie sind ziemlich genau kugelig, besitzen  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$  Durchmesser.

**Gewöhnliche Gelatineplatte:** Durchmesser der Oberflächenkolonien nach 3 Tagen 1 mm, nach 8 Tagen 1  $\frac{1}{2}$ —5 mm, nach 14 Tagen 3—7 mm. Durchmesser der Tiefenkolonien nach 3 Tagen  $\frac{1}{4}$  mm, nach 8 Tagen  $\frac{1}{2}$ —1 mm, nach 14 Tagen 1 mm. Die Oberflächenkolonien sind makroskopisch granuliert, hie und da mit zentralem gelblichem Knopf, mit fein gezahntem, gewelltem oder gelapptem Rand, rundlich, graugelb, feucht glänzend. Mikroskopisch ein kleines, dichtes, grobkörniges Zentrum, eine Peripherie mit lockiger Struktur. Die Tiefenkolonien sind rund, glatt und scharfrandig, gelb; mikroskopisch granuliert, oft mit dichterem Zentrum. Keine Verflüssigung.

**1-proz. Harnstoffgelatineplatte:** Durchmesser der Kolonien nach 3 Tagen  $\frac{1}{4}$ —1 mm, nach 8 Tagen 2 mm (Oberflächenkolonien), resp.  $\frac{1}{4}$ —1 mm (Tiefenkolonien); nach 14 Tagen nicht weiter gewachsen. Die Oberflächenkolonien sind makroskopisch mehr oder weniger granuliert, mit dichterem Zentrum, mit glattem, gezahntem oder gelapptem Rand, rundlich, trapezoid, unregelmäßig, gelb. Mikroskopisch kleines, dichtes, grobkörniges Zentrum, Peripherie mit lockiger Struktur, Rand gelappt oder die ganze Kolonie dicht, schollig, Rand mit kurzen, verkrümmten Ausläufern besetzt. Die Tiefenkolonien rund, scharfrandig, gelb; mikroskopisch granuliert mit dichterem Zentrum. Die Gelatine wird im Bereich der einzelnen Kolonien etwas erweicht, es tritt aber keine eigentliche Verflüssigung ein. Nach 3 Tagen deutliche Kristallbildung.

**Gewöhnlicher Gelatinestich:** Nach 2 Tagen hat sich ein gleichmäßig entwickelter, weißer Faden gebildet, ferner eine Auflage von 2 mm Durchmesser. Einige Tage später haben sich längs dem ganzen Faden dicht stehende seitliche Ausläufer entwickelt, die besonders oben freudig, unten nur kümmerlich gedeihen. Es hat sich jetzt eine Exkavation gebildet, schließlich kommt der obere Teil der Gelatinesäule gänzlich zur Verflüssigung.

**1-proz. Harnstoffgelatinestich:** Nach 2 Tagen kräftig entwickelter, oben und unten gleich starker Faden mit zahlreichen, dicht stehenden, sehr feinen, 1 mm langen seitlichen Ausläufern. Auflage mit 2 mm Durchmesser. Nach 5 Tagen Kristallbildung. Die Ausläufer im oberen Teile des Fadens weiter entwickelt. Die Auflage beginnt in die Gelatine einzusinken. Einige Tage später hat sich eine Exkavation gebildet, die sich nach und nach vergrößert und mit flüssiger Gelatine gefüllt ist. Unten bleiben die seitlichen Ausläufer kümmerlich.

**1-proz. Harnstoffgelatinestrich:** Nach 3 Tagen kräftig entwickelter, weißer Strich mit fein gekerbtem Rand, mattglänzend. Gute Kristallbildung. Nach 11 Tagen ist die Gelatineverflüssigung so weit fortgeschritten, daß das untere Stück des Striches abgerissen und nach unten gesunken ist. Später hat die Verflüssigung noch weitere Fortschritte gemacht.

**Gewöhnlicher Agarstrich:** (Bei 30°.) Nach 24 Stunden bereits kräftiges Wachstum: Saftig glänzender, gelblichgrauer, feingekerbter Strich. Nach 3 Tagen ist Breitenwachstum eingetreten; der Strich erreicht ca. eine Breite von 6 mm. Die Farbe wird später noch deutlicher gelblich. Der mediane Teil des Striches ist dann undurchsichtig, hat kurze quere Fortsätze in kleinen Abständen, die peripheren Teile sind durchscheinend, mit feingekerbter Begrenzung.

**Dextroseagarstrich:** (Bei 30°.) Es tritt nur kümmerliches Wachstum ein: Nach 14 Tagen ist eine durchscheinende graue Kolonie von 6 mm Länge und 3 mm Breite angegangen.

**Gewöhnliche Bouillon:** (Bei 20°.) Das Wachstum setzt langsam ein. Nach 11 Tagen hat sich eine ziemlich kräftige Trübung und spärlicher Bodensatz gebildet. Dieser hat zähschleimige Konsistenz. Dieses Bild ändert sich nicht mehr wesentlich.

**1-proz. Harnstoffbouillon:** (Bei 20°.) Nach 3 Tagen schwache Trübung. Nach 11 Tagen ist die Bouillon immer noch schwach trübe. In der Flüssigkeit flottieren zierliche Flocken und Fäden, ferner hat sich ein kleiner Bodensatz von zähschleimiger Konsistenz gebildet. Später keine wesentlichen Änderungen mehr.

**10-proz. Harnstoffbouillon:** (Bei 20°.) Nach 3 Tagen haben sich ziemlich große Kristalle entwickelt. Im übrigen würde in den nächsten 2 Wochen nichts auf

Wachstum schließen lassen. Nach 1 Monat Bildung eines spärlichen, sehr zähschleimigen Bodensatzes; schöne, an der Glaswand haftende Kristalle; Bouillon klar.

Milch: (Bei 30°.) Keine deutliche Veränderung. Reaktion amphoter, kein Indol.

Kartoffel: Bei 30° kein Wachstum. Bei 20° nach 8 Tagen: Glänzender, zarter, farbloser Belag von 8 mm Breite. Ebenso nach 1 Monat.

#### „Parzelle 93“.

Form und Größe: Schlanke Stäbchen mit abgerundeten Polen, vorwiegend einzeln oder zu zweien, daneben auch häufig als Fäden und manchmal im Kettenverbande. Durchschnittliche Dicke  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$ , als Ausnahmen auch  $\frac{1}{2}$  oder 1  $\frac{1}{4}$   $\mu$ . Länge 1—5—10  $\mu$ . Die Länge der Fäden beträgt bis 100  $\mu$ .

Beweglichkeit: Intensiv bis fehlend.

Färbbarkeit nach Gram: Positiv.

Sporenbildung: Vorhanden. Sie sind endständig, das Stäbchen leicht auftreibend. Durchmesser 1—1  $\frac{1}{4}$   $\mu$ . Form kugelig oder elliptisch.

Gewöhnliche Gelatineplatte: Durchmesser der Oberflächenkolonien nach 8 Tagen 1 mm, nach 14 Tagen 1—1  $\frac{1}{2}$  mm, Durchmesser der Tiefenkolonien nach 8 Tagen  $\frac{1}{4}$  mm, nach 14 Tagen  $\frac{1}{3}$ — $\frac{2}{3}$  mm. Nach 3 Tagen ist noch kein Wachstum zu bemerken. Nach 8—14 Tagen ergibt sich folgendes: Die Oberflächenkolonien sind makroskopisch knopfartig erhaben, feucht glänzend, rundlich, mit glattem, gewelltem, gelapptem oder gezahntem Rand, grau. Mikroskopisch: Kleines, dichtes, granuliertes Zentrum, Peripherie mit lockiger Struktur. Die Tiefenkolonien sind rund, glatt- und scharfrandig, gelblich; mikroskopisch granuliert. Keine Verflüssigung.

1-proz. Harnstoffgelatineplatte: Durchmesser der Oberflächenkolonien nach 3 Tagen 1  $\frac{1}{4}$  mm, nach 8 und 14 Tagen 2 mm; Durchmesser der Tiefenkolonien nach 3 Tagen  $\frac{1}{4}$  mm, nach 8 und 14 Tagen  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  mm. Nach 3 Tagen Kristallbildung, beginnende Dellung der Gelatine. Die Oberflächenkolonien sind makroskopisch rund, rundlich, gelblich, grob granuliert, mit dichterem Zentrum und durchscheinender Peripherie, mit höckeriger Oberfläche, glänzend, mit gezahntem bis gewelltem Rande. Mikroskopisch gehen stark geschlängelte, im Zentrum derbere, peripher zarter werdende Linien vom Mittelpunkt der Kolonie bis zum Rande. Dieser ist nach 8 Tagen stark gewellt, aber scharf, nach 14 Tagen aber ist die scharfe Grenze stellenweise durchbrochen durch ein Bündel von leicht geschlängelten Ausläufern, die weit in die Umgebung ausstrahlen und sich diskontinuierlich verlieren. Die Tiefenkolonien sind mikroskopisch rund, glattrandig, gelb; mikroskopisch granuliert, dem Rande der eigentlichen Kolonie parallel verlaufen bei einem Teil derselben in deren nächster Umgebung leicht gewellte, zarte Züge von Tochterkolonien, die nach 14 Tagen büschelförmig in die weitere Umgebung ausstrahlende Ausläufer entwickelt haben. Keine Gelatineverflüssigung, hingegen deutliche Erweichung.

Gewöhnlicher Gelatinestich: Nach 2 Tagen gut entwickelter, oben etwas freudiger gedeihender, weißer Faden. Keine Auflage. Keine seitlichen Ausläufer. Ebenso nach 1 Monat. Die Farbe ist bräunlich geworden.

1-proz. Harnstoffgelatinestich: Nach 2 Tagen hat sich ein zarter Faden entwickelt. 1—2 mm unter der Oberfläche der Gelatinesäule haben sich in schmaler Zone sehr zarte seitliche Ausläufer gebildet, die als zarte Trübung bis zur Glaswand reichen. Kleine Auflage. Oben Kristallbildung. Nach 12 Tagen hat sich ein flacher, bis zur Glaswand reichender Verflüssigungstrichter gebildet. Die Gelatine ist dort zähflüssig. In der Mitte ist die Auflage noch deutlich zu erkennen; sie ist gelblich, unregelmäßig begrenzt, hat bäumchenförmige Ausläufer. Der Faden hat bräunliche Farbe. Die seitlichen Ausläufer sind in der verflüssigten Gelatine nicht mehr zu finden. Nach 1 Monat hat die Verflüssigung wesentliche Fortschritte gemacht. Der ganze oberste cm der Gelatinesäule ist verflüssigt, die Gelatine ist dünnflüssig geworden. Die verflüssigte Gelatine ist wolkig trübe, mit Bodensatz.

1-proz. Harnstoffgelatinestrich: Nach 3 Tagen kräftig entwickelter, bräunlichgrauer Strich, sowie gut entwickelte Kristalle. Am Rande des Striches gehen 1 mm lange, bäumchenförmige seitliche Ausläufer ab, die sich gegenseitig berühren. Nach 11 Tagen ist beginnende Gelatineverflüssigung bemerkbar. Der Strich liegt in einer seitlichen Furche. Die seitlichen Ausläufer sind jetzt 2—3 mm lang. Nach 14 Tagen beginnt die verflüssigte Gelatine nach unten zu fließen. Nach 1 Monat ist der größte Teil der Gelatine verflüssigt. Der Bodensatz in derselben hat einen leicht rötlichen Farbenton.



**Gewöhnlicher Agarstrich:** (Bei 30°). Nach 4 Tagen ist zartes Wachstum zu notieren. Der Strich ist durchscheinend, grau, gekerbt oder gezähnt. Nach 7 Tagen hat kräftigeres Wachstum eingesetzt, in der Mitte ist der Strich undurchsichtig geworden, er ist glänzend, graugelb, die größte Breite beträgt ca. 6 mm. Nach 15 Tagen gehen von der dichten, medianen Wachstumszone breite Ausläufer durch die durchscheinenden lateralen Partien hindurch bis zum gekerbten Rande. Größte Breite ca. 1 cm.

**Dextrose-Agarstrich:** (Bei 30°). Kein Wachstum.

**Gewöhnliche Bouillon:** (Bei 20°). Langsam eintretendes Wachstum. Nach 11 Tagen ist eine ziemlich kräftige Trübung und geringer Bodensatz zur Entwicklung gelangt. Dieser ist zähschleimig.

**1-proz. Harnstoffbouillon:** (Bei 20°). Nach 3 Tagen ist ziemlich kräftige Trübung zu beobachten, ferner eine äußerst dünne Kahmhaut und wenig Bodensatz. An der Glaswand haften Kristalle. Nach 11 Tagen ist der Bodensatz reichlich und zähschleimig geworden, in der diffus trüben Bouillon flottieren zierliche Fäden.

**10-proz. Harnstoffbouillon:** (Bei 20°). Das Wachstum scheint sehr langsam einzusetzen. Selbst nach 14 Tagen ist außer einigen Kristallen nichts zu beobachten. Nach 1 Monat hat sich ein lockerer Bodensatz entwickelt, der sich beim Schütteln leicht in diffuse Trübung auflöst.

**Milch:** (Bei 30°). Keine deutliche Veränderung. Reaktion amphoter, kein Indol.

**Kartoffel:** (Bei 20 und 30°). Kein Wachstum.

#### „Gartenland I“.

**Form und Größe:** Schlanke Stäbchen mit abgerundeten Polen, daneben hin und wieder Tonnenformen; vorwiegend einzeln oder zu zweien, häufig auch als 30—100 und mehr  $\mu$  lange Fäden. Durchschnittliche Dicke  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$ , Länge  $1\frac{1}{2}$ —3—5—10  $\mu$ .

**Beweglichkeit:** Intensiv bis fehlend.

**Färbbarkeit nach Gram:** Positiv.

**Sporenbildung:** Vorhanden. Die Sporen sind entweder endständig oder etwas gegen die Mitte gerückt, sie treiben das Stäbchen etwas auf. Form kugelig, Durchmesser 1—1 $\frac{1}{4}$   $\mu$ . Oft sind in den tonnenförmigen Stäbchen Sporen vorhanden.

**Gewöhnliche Gelatineplatte:** Kein Wachstum.

**1-proz. Harnstoffgelatineplatte:** Durchmesser der Oberflächenkolonien nach 4 Tagen  $\frac{1}{2}$  mm, nach 11 Tagen 1—2 mm, Durchmesser der Tiefenkolonien nach 11 Tagen  $\frac{1}{2}$ —1 mm. Die Oberflächenkolonien sind knopfartig erhaben, saftig glänzend, rund, glatt und scharfrandig oder an einzelnen Stellen des Randes kurze Auswüchse aufweisend, graugelb, später orange gelb, von Kristallhöfen umgeben. Die Gelatine ist im Bereich der Kolonien leicht gedellt. Die Tiefenkolonien weisen keine Besonderheiten auf. Mikroskopisch sind 2 Typen zu unterscheiden, die allerdings alle Übergänge zueinander aufweisen: 1. Form: rundlich, fein granuliert, scharfrandig. 2. Form: medusenhaarähnliches Gebilde, aus einzelnen schollig gebauten, am Ende korkzieherartig gewundenen Ausläufern bestehend. Keine Verflüssigung.

**Gewöhnlicher Gelatinestich:** Kein Wachstum.

**1-proz. Harnstoffgelatine-Stich:** Kräftig entwickelter, gelblicher Faden. Oben entwickeln sich seitliche Ausläufer, die nach 12 Tagen 4—5 mm lang sind. Es entwickelt sich eine Auflage, die nach 12 Tagen 5 mm Durchmesser besitzt und gekerbt ist. Gute Kristallbildung, keine Verflüssigung.

**1-proz. Harnstoffgelatinestrich:** Kräftig entwickelter, graugelber, mattglänzender, gezählter Strich, mit wenigen 1—2 mm langen (nach 14 Tagen) baumförmigen seitlichen Ausläufern. Kristallbildung. Keine Gelatineverflüssigung.

**Gewöhnlicher Agarstrich:** (Bei 30°). Kein Wachstum.

**Dextroseagarstrich:** (Bei 30°). Kein Wachstum.

**Gewöhnliche Bouillon:** (Bei 30°). Kein Wachstum.

**1-proz. Harnstoffbouillon:** (Bei 30°). Nach 2 Tagen ist die Bouillon stark diffus getrübt, es hat sich ein geringer Bodensatz abgelagert. Innerhalb der diffusen Trübung sind feinste Flöckchen zu bemerken. Keine Kahmhaut. Nach 7 Tagen hat sich das Bild nur insofern verändert, als die feinen Flocken jetzt zu Boden gesunken sind und der Bodensatz reichlich geworden ist. Beim Schütteln verteilt sich der Bodensatz sofort. Auch nach 1 Monat ist er mehlig-bröcklig.

**10-proz. Harnstoffbouillon:** (Bei 30°). Es bildet sich eine feine diffuse Trübung, beinahe kein Sediment, das außerdem zum größten Teil aus Kristallen besteht. Nach 1 Monat finden sich in der jetzt klaren Bouillon feine Flöckchen.

Milch: (Bei 30°.) Keine deutliche Veränderung. Reaktion amphoter, kein Indol.

Kartoffel: (Bei 30°.) Kein Wachstum.

#### „Gartenland II“.

Form und Größe: Schlanke Stäbchen mit abgerundeten Polen, ferner hin und wieder tonnenförmige Stäbchen; vorwiegend einzeln oder zu zweien, daneben auch als Fäden und im wenig gliederigen Kettenverbande. Durchschnittliche Dicke  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$ . Länge  $1\frac{1}{2}$ —3—5—10  $\mu$ . Die Fäden sind 30—100  $\mu$  lang.

Beweglichkeit: Intensiv bis fehlend.

Färbbarkeit nach Gram: Positiv.

Sporenbildung: Vorhanden. Die Sporen sind entweder endständig oder etwas gegen die Mitte gerückt, sie treiben das Stäbchen etwas auf. Form kugelig, Durchmesser  $1-1\frac{1}{4}$   $\mu$ . Oft sind in den tonnenförmigen Stäbchen Sporen vorhanden.

Gewöhnliche Gelatineplatte: Kein Wachstum.

1-proz. Harnstoffgelatineplatte: Durchmesser der Oberflächenkolonien nach 4 Tagen  $\frac{1}{2}$ —1 mm, nach 11 Tagen 1—2 mm, Durchmesser der Tiefenkolonien nach 11 Tagen  $\frac{1}{2}$ —1 mm. Die Oberflächenkolonien sind knopfartig erhaben, saftig glänzend, rund, nicht immer ganz scharfrandig, sondern manchmal am Rande aufgelockert mit unscharfen Umrissen und kleinen Auswüchsen, gelbgrau bis gelb bis orange, von Kristallhof umgeben. Die Gelatine ist im Koloniebereich leicht gedellt. Die Tiefenkolonien zeigen nichts Besonderes. Mikroskopisch sind 2 Typen zu unterscheiden, die durch fließende Übergänge miteinander verbunden werden: 1. Form: Rundlich, fein granuliert, Zentrum dicht, Peripherie durchscheinend, gewellt und glattrandig. 2. Form: Schollige Struktur, unregelmäßige Begrenzung, etwas entfernt vom Rand der eigentlichen Kolonie laufen ihm parallel oft Ausläufer, die aus rosenkranzförmig aneinander gelagerten scholligen Gebilden, quasi Tochterkolonien bestehen. Keine Verflüssigung.

Gewöhnlicher Gelatinestich: Kein Wachstum.

1-proz. Harnstoffgelatinestich: Kräftig entwickelter, gelblicher Faden. Oben entwickeln sich seitliche Ausläufer, die nach 12 Tagen 4—5 mm lang sind, unten sind kümmerliche Seitenausläufer von 1 mm Länge zu beobachten. Die Auflage ist gewellt-randig, hat nach 12 Tagen ca. 5 mm Durchmesser. Gute Kristallbildung, keine Verflüssigung.

1-proz. Harnstoffgelatinestrich: Kräftig entwickelter, graugelber, mattglänzender, ziemlich glatt begrenzter Strich, mit vielen, nach 14 Tagen 3—4 mm langen bäumchenförmigen seitlichen Ausläufern. Kristallbildung. Keine Gelatineverflüssigung.

Gewöhnlicher Agarstrich: (Bei 30°.) Kein Wachstum.

Dextroseagarstrich: (Bei 30°.) Kein Wachstum.

Gewöhnliche Bouillon: (Bei 30°.) Kein Wachstum.

1-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 30°.) Kräftige diffuse Trübung der Bouillon, innerhalb derselben ferner feine Flöckchen. Zonenbildung. Kahmhautbildung und reichlicher Bodensatz. Dieser ist etwas schleimig, verteilt sich aber beim Schütteln. Nach 1 Monat ist er mehlig-bröcklig.

10-proz. Harnstoffbouillon: (Bei 30°.) Feine diffuse Trübung, zuerst in Ringform auftretend, später sich über die ganze Bouillonsäule ausbreitend. Kristalle an Glaswand und ein spärlicher Bodensatz. Nach 1 Monat ist der Bodensatz ziemlich voluminös geworden, beim Schütteln sich in Flöckchen verteilend. Die Bouillon ist klar geworden.

Milch: (Bei 30°.) Keine deutliche Veränderung. Reaktion amphoter, kein Indol.

Kartoffel: (Bei 30°.) Kein Wachstum.

#### „Mist a“.

Form und Größe: Schlanke Stäbchen mit abgerundeten Polen, hie und da tonnenförmige Stäbchen; vorwiegend einzeln oder zu zweien, ferner als Fäden. Außerdem wurden mannigfaltige Involutionsformen beobachtet. Durchschnittliche Dicke  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$ . Länge  $1\frac{1}{2}$ —3—5—10  $\mu$ . Die Fäden sind 30—100  $\mu$  lang. (Die Involutionsformen können eine Dicke von 2  $\mu$  erreichen.)

Beweglichkeit: Meistens fehlend, hin und wieder in geringem Grade vorhanden.

Färbbarkeit nach Gram: Positiv.

**Sporenbildung:** Vorhanden. Die Sporen sind endständig oder etwas gegen die Mitte des Stäbchens gerückt, sie treiben die Stäbchen etwas auf. Form kugelig, Durchmesser  $1-1\frac{1}{4}$   $\mu$ . Oft sind in den tonnenförmigen Stäbchen Sporen vorhanden.

**Gewöhnliche Gelatineplatte:** Kein Wachstum.

**1-proz. Harnstoffgelatineplatte:** Durchmesser der Oberflächenkolonien nach 4 Tagen  $\frac{1}{2}-1$  mm, nach 12 Tagen 1 mm, Durchmesser der Tiefenkolonien nach 12 Tagen  $\frac{1}{2}$  mm. Die Oberflächenkolonien sind knopfartig erhaben, saftig glänzend, rund, mehr oder weniger scharfrandig, gelbgrau, später orange gelb, von Kristallhof umgeben. Die Gelatine ist im Koloniebereich leicht gedellt. Die Tiefenkolonien zeigen nichts Besonderes. Mikroskopisch sind die Kolonien fein granuliert, mit dichtem Zentrum und durchscheinender Peripherie, entweder gewellt und gezacktrandig oder peripher in haarlockenähnlichem Gebilde aufgefaset. Keine Verflüssigung.

**Gewöhnlicher Gelatinestich:** Kein Wachstum.

**1-proz. Harnstoffgelatinestich:** Kräftig entwickelter, gelblicher Faden. Besonders nach 12 Tagen ist der Faden oben sehr dick, hingegen sind seitliche Ausläufer nicht zur Entwicklung gelangt. Die Auflage hat nach 12 Tagen 7 mm Durchmesser, sie ist gekerbt. Gute Kristallbildung, keine Verflüssigung.

**1-proz. Harnstoffgelatinestrich:** Sehr kräftig entwickelter, gelblicher, ca. 3—4 mm breiter, gezählter, mattglänzender Strich mit 1—2 mm langen seitlichen Ausläufern (nach 14 Tagen). Kristallbildung, keine Verflüssigung.

**Gewöhnlicher Agarstrich:** (Bei 30°.) Kein Wachstum.

**Dextroseagarstrich:** (Bei 30°.) Kein Wachstum.

**Gewöhnliche Bouillon:** (Bei 30°.) Kein Wachstum.

**1-proz. Harnstoffbouillon:** (Bei 30°.) Kräftige diffuse Trübung, ferner in der Bouillon flottierend zierliche Fäden, reichlicher, sehr zähschleimiger Bodensatz. Kristallbildung. Keine Kahmhaut. Nach 1 Monat Bodensatz mehlig-bröcklig.

**10-proz. Harnstoffbouillon:** (Bei 30°.) Starke Trübung, oben in Zonen, flockiger Bodensatz, nach einigen weiteren Tagen ist die Bouillon klar, der Bodensatz reichlich, zähschleimig. Kristallbildung. Nach 1 Monat ist der Bodensatz von mehr mehlig Konsistenz.

**Milch:** (Bei 30°.) Keine deutliche Veränderung. Reaktion amphoter, kein Indol.

**Kartoffel:** (Bei 30°.) Kein Wachstum.

### c) Zur Einreihung der Versuchsorganismen im System.

Im Folgenden soll der Versuch einer Klassifizierung unserer Versuchsorganismen gemacht werden. Wenn auch nicht alle mit den bereits genügend charakterisierten Harnstoffbakterien übereinstimmen, so wurde dennoch von einer definitiven Bezeichnung derselben abgesehen. Auf eine Berücksichtigung aller in der Literatur benannten Harnstoffvergärer war nicht gut einzugehen; schon bei der Durchführung einer Identifizierung mit den ausführlich beschriebenen Arten konnten sich Schwierigkeiten ergeben, eine Vergleichung mit den unzureichend charakterisierten Arten aber wäre von ziemlich illusorischem Werte gewesen.

Daß es bei dieser Gruppe von Mikroorganismen für die Beurteilung der Spezies notwendig ist, eine ganze Anzahl von Eigenschaften zusammen genommen erst als ausschlaggebend zu betrachten, das zeigen schon die Angaben Beijerincks (3), darauf weisen dann vor allem Löhnis (17), sowie Löhnis und Kuntze (19) hin. Ein Paradigma dieser Eigentümlichkeit stellt der Stamm „Erde a“ dar. Bis 3 Monate nach der Reinzüchtung gelang es unschwer, Sporen nachzuweisen; nach einem halben Jahre und später konnte, trotz Untersuchung eines reichlichen, verschiedenartigen und verschieden alten Kulturmateri als, keine Spore mehr gefunden werden. Während dieser Organismus 3 Monate nach der Isolierung Harnstoff in 10-proz. Konzentration kräftig angriff, war ihm das 4 Monate später nicht mehr

möglich. Vielleicht ist auch „Erde b“ zu den Sporenbildnern zu zählen, wenn es auch nur gelang, „Granula“ zu finden.

Beim Vergleich der Gärkraft wurden immer nur die aeroben Kulturen herangezogen.

Der Eigenschaft, unter absolut anaeroben Verhältnissen wachsen zu können, wurde bei der Gruppierung keine ausschlaggebende Bedeutung zugemessen. Bei einer künftigen, endgültigen Neuordnung der Gruppe dürfte wohl diesem Faktor mitbestimmender Einfluß eingeräumt werden.

Auch in den günstigsten Fällen von Übereinstimmung bestand nie vollständiger Parallelismus bezüglich der Dimensionen der Stäbchen.

### 1. „Gülle a“.

Vergleich mit der Beschreibung von *Bac. Pasteuri* (Miquel)  
*Migula* von Löhnis und Kuntze (20).

Was die Form anlangt, besteht ziemliche Übereinstimmung.

Die Größenverhältnisse dagegen sind abweichend:

„Gülle a“:  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$  dick,  $1\frac{1}{2}$ —5—10  $\mu$  lang.

*Bac. Pasteuri*: 1  $\mu$  dick, 2—4  $\mu$  lang (letzteres, wenn Doppelstäbchen vorhanden).

Die Beweglichkeit ist übereinstimmend. Beide sind grampositiv.

Sporenbildung ist bei beiden vorhanden, „Gülle a“ hat endständige Sporen, bei *Bac. Pasteuri* sind sie nicht ganz endständig.

Harnstoffgelatineplatte: Im großen Ganzen besteht gute Übereinstimmung. Bei beiden Stämmen sind 2 Typen von Oberflächenkolonien zu unterscheiden, ein langsam wachsender, knopfartig erhabener, feucht glänzender, ganzrandiger und ein rascher sich ausbreitender, häutchenartiger, am Rande in radiär verlaufende haarartige Ausläufer aufgelockerter Typus.

Harnstoffgelatinestichkultur: In beiden Fällen tritt die Verflüssigung langsam ein; *Bac. Pasteuri* bildet ein Oberflächenhäutchen oder eine Knöpfchenauflage, während unser Stamm gar kein Oberflächenwachstum zeigte, hingegen Bildung von Seitenästen, was hinwiederum dem *Bac. Pasteuri* abging. Jedenfalls sind das aber keine wesentlichen Differenzen.

Harnstoffbouillon: Das Wachstum scheint übereinstimmend zu sein.

Ein weiterer unwesentlicher (17) Unterschied besteht darin, daß *Bac. Pasteuri* auf Fleischgelatine und Fleischagar „fast nie“ wächst, selten äußerst geringe, milchig-graue Entwicklung aufweist, gar nicht gedeiht auf gewöhnlicher Bouillon, Milch und Kartoffeln, während unser Stamm, wenn auch langsam, doch kräftig wächst auf Fleischgelatineplatten, Fleischagar und in Bouillon.

Vergleich mit der Beschreibung von *Urobacillus pasteurii*  
Miquel von Beijerinck (4).

Daß unser Mikroorganismus auch auf nicht speziell alkalisierten Nährmedien ohne Harnstoff zur Entwicklung gelangen kann, während der *Urobacillus pasteurii* Miquel unter diesen Bedingungen nicht angeht, ist wohl nach den Auseinandersetzungen von Löhnis (17) nicht als eingreifender Unterschied zu betrachten.

Die Kolonien beider Stämme erreichen auf Harnstoffgelatineplatten schließlich ansehnliche Größe. In betreff geringem Verflüssigungsvermögen besteht Übereinstimmung. (Wir pasteurisierten unsere Standardkultur beim Überimpfen nicht, daher ist unser Material nach Beijerincks Ausführungen sporenarm, d. h. Gelatine langsam verflüssigend (3)).

Puncto Dimensionen bestehen Unterschiede:

„Gülle a“:  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$  dick,  $1\frac{1}{2}$ —5—10  $\mu$  lang.

*Urobacillus pasteurii*: 1,5  $\mu$  dick, 4—5  $\mu$  lang.

Was Form, Beweglichkeit und Sporen anbelangt, so besteht Übereinstimmung.

Vergleich mit der Beschreibung von *Urobacillus leubei* n. sp.  
von Beijerinck (5).

Beijerinck betrachtet den *Urobacillus leubei* als verwandt mit dem *Urobacillus pasteurii*. Einige seiner Eigenschaften stimmen besser mit unserem Stamm überein als das bei *Urobacillus Pasteuri* zu bemerken war.

Dimensionen: „Gülle a“:  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$  dick,  $1\frac{1}{2}$ —5—10  $\mu$  lang.

*Urobacillus leubei*: 1,5  $\mu$  dick, 3—5  $\mu$  lang, „bisweilen noch viel länger“.

*Urobacillus leubei* wächst auf gewöhnlicher Fleischgelatine wie unser Stamm, der allerdings zuerst sehr langsam angeht, manchmal auch ganz versagt und so eine Zwischenstellung einnimmt zwischen *Urobacillus leubei* und *Pasteuri*.

Die Angaben über die Koloniegößen auf Fleischgelatineplatten stimmen ungefähr überein mit denjenigen des Stammes „Gülle a“.

*Urobacillus leubei* verflüssigt Gelatine nicht, „Gülle a“ sehr zögernd.

#### Vergleich mit der Beschreibung von *Bacillus Freudenreichii* (Miquel) Migula von Löhnis (18).

In der Form herrscht gute Übereinstimmung. Ebenso in den Breitenmaßen. Hingegen differieren wieder die Längendimensionen.

„Gülle a“:  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$  dick,  $1\frac{1}{2}$ —5—10  $\mu$  lang.

*Bac. Freudenreichii*: 1  $\mu$  dick, 2—4  $\mu$  lang.

In Beweglichkeit und Färbbarkeit herrscht gute Übereinstimmung.

Die Sporenbildung zeigt keine Differenzen:

„Gülle a“: Sporen kugelig, endständig.

*Bac. Freudenreichii*: Sporen elliptisch, halbmittelständig.

Fleischgelatineplatte: Bei beiden relativ langsame Entwicklung. Bei beiden kommt der Colontypus vor. Immerhin decken sich die Koloniebeschreibungen nur teilweise. So sind bei „Gülle a“ zwei Typen vorhanden, ein knöpfchenartiger und ein blattförmiger.

Harnstoffgelatineplatte: Bei beiden ist das Wachstum ein rascheres als auf gewöhnlicher Fleischgelatine. In betreff Morphologie der Kolonien sei hier bemerkt, daß Löhnis bei *Bac. Freudenreichii* von einem Colontypus zeigenden Wachstum spricht, bei *Bac. Pasteuri* von einem typhusähnlichen. Doch entsteht später bei *Bac. Pasteuri* subtilisähnliche Strahlung. In der Beziehung gehört wohl „Gülle a“ eher zu *Bac. Pasteuri*.

Fleischgelatinestich: „Gülle a“ ist nicht angegangen. Da das Wachstum auch bei *Bac. Freudenreichii* recht unsicher ist, so darf darin kein eigentlicher Unterschied erblickt werden.

Harnstoffgelatinestich: Es bestehen keine Differenzen:

*Bac. Freudenreichii* hat weiße Auflage, „Gülle a“ nicht.

„Gülle a“ hat seitliche Ausläufer, *Bac. Freudenreichii* nicht.

Fleischagarstrich: Gutes Wachstum, gute Übereinstimmung in beiden Fällen.

Bouillon: Gute Übereinstimmung, in beiden Fällen langsam zunehmende Trübung, keine Hautbildung, mehligter Bodensatz.

Milch: Übereinstimmend.

Kartoffel: Bei „Gülle a“ konnte kein Wachstum erzielt werden, dagegen bei *Bac. Freudenreichii*, wenn auch mit Mühe.

#### Vergleich mit der Beschreibung von *Urobacillus miquelii* von Beijerinck (6).

*Urobac. miquelii* bildet keine Sporen. Es dürfte sich also um streng verschiedene Mikroorganismen handeln.

#### Bemerkung zum Harnstoffvergärungsvermögen als differentialdiagnostischem Merkmal.

Dem Harnstoffvergärungsvermögen darf bei den Identifizierungsversuchen nicht allzu großer Wert beigelegt werden (17) und (19), was auch aus den im Folgenden wiedergegebenen Zahlen zur Genüge hervorgeht. Sie bedeuten die Anzahl ccm n/10-Säure, die erforderlich ist zur Neutralisation von 1 ccm Kulturflüssigkeit.

#### *Bac. Pasteuri*.

3,0—29,4 ccm nach 1 Woche (10-proz. Harnstoffbouillon, Löhnis und Kuntze).

(Sterile Nährflüssigkeit: 0,8—0,9 ccm.)

ca. 33 ccm nach 1 Woche (10-proz. ? Harnstoffbouillon Miquel und Beijerinck, zit. nach Löhnis und Kuntze).

**Urobac. leubei.**

1,0—8,3 ccm nach 1 Woche (10-proz. Harnstoffbouillon, Löhnis und Kuntze).  
(Sterile Nährflüssigkeit: 0,8—0,9 ccm.)  
8,6 ccm nach 1 Woche (10-proz. ? Harnstoffbouillon Miquel und Beijerinck, zit. nach Löhnis und Kuntze).

**Bac. Freudenreichii.**

11,65 ccm nach 1 Woche (Harnstoffkonzentration? Miquel, zit. nach Löhnis, berechnet).  
0,18—0,8 ccm nach 1 Woche (2-proz. Harnstoffbouillon, Löhnis, berechnet).  
(Sterile Nährflüssigkeit 0,07—0,08 ccm, berechnet.)  
0,85—8,65 ccm nach 1 Woche (5-proz. Harnstoffbouillon, Löhnis, berechnet).  
(Sterile Nährflüssigkeit 0,45 ccm, berechnet.)  
1,0—1,55 ccm nach 1 Woche (10-proz. Harnstoffbouillon, Löhnis, berechnet).  
(Sterile Nährflüssigkeit 0,3—0,35 ccm, berechnet.)

**Urobac. miquelii.**

0,9—1,0 ccm nach 1 Woche (10-proz. Harnstoffbouillon, Löhnis u. Kuntze).  
(Sterile Nährflüssigkeit: 0,8—0,9 ccm.)  
4,3 ccm nach 1 Woche (10-proz. ? Harnstoffbouillon Miquel und Beijerinck, zit. nach Löhnis und Kuntze).  
1,55—1,65 ccm nach 1 Woche (2-proz. Harnstoffbouillon, Löhnis, berechnet).  
(Sterile Nährflüssigkeit: 0,07—0,08 ccm, berechnet.)  
3,1 ccm nach 1 Woche (5-proz. Harnstoffbouillon, Löhnis, berechnet).  
(Sterile Nährflüssigkeit: 0,45 ccm, berechnet.)  
3,35 ccm nach 1 Woche (10-proz. Harnstoffbouillon, Löhnis, berechnet).  
(Sterile Nährflüssigkeit: 0,3—0,35 ccm, berechnet.)  
Obige Versuche sind anscheinend bei Zimmertemperatur durchgeführt worden.

**„Gülle a“.**

1,8 ccm nach	8 Tagen, bei	20°,	1-proz. Harnstoffbouillon
3,5 „ „	15 „ „	20°,	„ „
3,5 „ „	7 „ „	30°,	„ „
3,5 „ „	15 „ „	30°,	„ „
4,4 „ „	8 „ „	20°,	10-proz. „
7,2 „ „	15 „ „	20°,	„ „
11,1 „ „	2 Mon., „	20°,	„ „

(Sterile Nährflüssigkeit überall: 0,3 ccm.)  
0,6 ccm nach 1 Monat, bei 30°, 10-proz. Harnstoffbouillon.  
(Sterile Nährflüssigkeit: 0,45 ccm.)

**Schlusfolgerung:**

Wenn auch gewisse Beziehungen unseres Stammes „Gülle a“ zu *Bac. Pasteuri*, *Leubei* und *Freudenreichii* bestehen, so ist es doch nicht möglich, ihn einer schon genauer charakterisierten Spezies zu subsumieren; abgesehen vom schwankenden Verhalten mancher Merkmale der ganzen Gruppe darf hier auch von mangelnder Übereinstimmung im besonderen gesprochen werden.

**2. „Gülle b“.**

Vergleichen wir die morphologischen und kulturellen Merkmale von „Gülle b“ und „Gülle a“, so finden wir fast völlige Übereinstimmung. Es seien hier zunächst die wenigen kleinen Unterschiede angeführt:

„Gülle b“ geht auf gewöhnlichen Gelatineplatten nicht an, hingegen „Gülle a“.

„Gülle b“ bildet auf Harnstoffgelatineplatten Kolonien vom Typus b mit scharfem Rand und konzentrischen Ringen, „Gülle a“ solche mit unscharfem Rand, von glasigem Aussehen. Doch besteht bei mikroskopischer Betrachtung gute Übereinstimmung.

„Gülle b“ bildet im Harnstoffgelatinestich außer seitlichen Ausläufern eine Auflage mit 1 cm Durchmesser und gefranstem Rand.

Mit luftdichtem Verschuß				„Gülle b“	„Gülle a“	Sterile Nähr- flüssigkeit
1-proz. Harnstoffbouillon,	20°, nach	8 Tagen		2,2	1,8	0,3
„	20°, „	15 „		3,2	3,5	0,3
„	30°, „	7 „		3,65	3,5	0,3
„	30°, „	15 „		3,6	3,5	0,3
10-proz.	20°, „	8 „		6,2	4,4	0,3
„	20°, „	15 „		8,2	7,2	0,3
„	20°, „	2 Mon.		8,9	11,1	0,3
„	30°, „	1 „		7,5	0,6	0,45

Keine einzige dieser Differenzen gibt uns die Berechtigung, die beiden Stämme „Gülle a“ und „Gülle b“ zu trennen; denn sie sind alle akzidenteller Natur, können z. B. sehr wohl durch unvollkommenes physikalisch-chemisches Übereinstimmen der Nährmedien bedingt sein.

Wir kommen also auch für „Gülle b“ zum Schlusse, daß der Stamm Verwandtschaft zeigt mit *Bac. Pasteuri* resp. *Bac. Leubei* einerseits und *Bac. Freudenreichii* andererseits.

### 3. „Gülle c“.

Vergleich mit der Beschreibung von *Bac. Pasteuri* (Miquel)  
Migula von Löhnis und Kuntze.

Hinsichtlich Form, Beweglichkeit, Färbbarkeit nach Gram und Sporenbildung besteht Übereinstimmung. Die Größenverhältnisse divergieren auch hier etwas:

„Gülle c“:  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$  dick,  $1\frac{1}{2}$ —5—8  $\mu$  lang.

*Bac. Pasteuri*: 1  $\mu$  dick, 2—4  $\mu$  lang.

Harnstoffgelatineplatte: Auch hier sind 2 Typen zu beobachten, ein langsamer und ein schneller wachsender resp. verflüssigender. Ein ziemlich scharf unterscheidendes Merkmal besteht aber in dem exquisiten Verflüssigungsvermögen von „Gülle c“. Während man bei vielen Harnstoffvergärrern eine langsam zunehmende Gelatineerweichung zu sehen bekommt, die wohl durch die zunehmende Ammonkarbonatbildung genügend erklärt wird, handelt es sich bei „Gülle c“ offenbar um peptonisierendes Ferment. Nach 4 Tagen hat ein Teil der Kolonien bereits schalenartige, scharfkantig begrenzte Verflüssigungsdellen gebildet. Solange die Verflüssigung noch nicht eingesetzt hat, besteht ziemlich gute Übereinstimmung der mikroskopischen Bilder. Auch hier kann sich am Rande ein Strahlenkranz von Ausläufern bilden wie bei *Bac. Pasteuri*.

Harnstoffgelatinestichkultur: Auch hier besteht der wesentlichste Unterschied im verschieden stark ausgesprochenen Verflüssigungsvermögen der beiden Organismen. „Gülle c“ verflüssigt schon nach 2 Tagen, es bildet sich ein scharf ausgestochener Verflüssigungsnapf. „Gülle c“ bildet seitliche Ausläufer, *Bac. Pasteuri* nicht, hingegen bildet letzterer eine kleine Auflage, was bei der rasch verlaufenden Gelatineverflüssigung bei „Gülle c“ nicht möglich ist.

Harnstoffbouillon: Kein wesentlicher Unterschied.

Auf gewöhnlicher Fleischgelatine, Fleischagar und Bouillon wächst „Gülle c“ ganz gut, in Milch und auf Kartoffel nicht, während *Bac. Pasteuri* auch auf den drei erstgenannten Nährmedien nicht oder sehr kümmerlich angeht.

Vergleich mit der Beschreibung von *Urobac. pasteuri* Miquel  
von Beijerinck.

Auch hier bestehen die Hauptunterschiede in dem verschieden stark ausgeprägten Gelatineverflüssigungsvermögen und in dem divergenten Verhalten auf harnstoff- resp. ammonkarbonatfreien Nährböden, ferner in der abweichenden Länge der Stäbchen.

Vergleich mit der Beschreibung von *Urobac. leubei* n. sp.  
von Beijerinck.

*Urobac. leubei* verflüssigt Gelatine gar nicht, wodurch er sich scharf von „Gülle c“ unterscheidet.

Vergleich mit der Beschreibung von *Bacillus Freudenreichii* (Miquel) Migula von Löhnis.

In betreff Form, Beweglichkeit, Gram färbbarkeit und Sporenbildung besteht Übereinstimmung. Dimensionen:

„Gülle c“:  $\frac{3}{4}$ —1  $\mu$  dick,  $1\frac{1}{2}$ —5—8  $\mu$  lang.

*Bac. Freudenreichii*: 1  $\mu$  dick, 2—4  $\mu$  lang.

Auf gewöhnlicher Fleischgelatine-, sowie Harnstoffgelatineplatte unterscheiden sich beide Mikroorganismen durch ihr verschiedenes Verflüssigungsvermögen: *Bac. Freudenreichii* verflüssigt die Gelatine nicht, „Gülle c“ hingegen ziemlich intensiv.

Das ist auch das Hauptunterscheidungsmerkmal für den Fleischgelatine- und Harnstoffgelatinestich.

Auf Fleischagar und in Bouillon wachsen beide Organismen gut. In Milch scheint kein Wachstum einzutreten, hingegen wächst *Bac. Freudenreichii* auf Kartoffel, „Gülle c“ wollte nicht anheben.

Vergleich mit der Beschreibung von *Urobac. miquelii* von Beijerinck.

*Urobacillus miquelii* unterscheidet sich scharf durch fehlende Sporenbildung von unserem Stamm, vorausgesetzt, daß es sich dabei wirklich um ein konstantes Artmerkmal handelt.

Harnstoffvergärungsvermögen in Bouillon:

Mit luftdichtem Verschuß					„Gülle c“	Sterile Nährflüssigkeit
1-proz. Harnstoffbouillon,	20°,	nach	8 Tagen	. . . .	2,1	0,3
„	20°,	„	15 „	. . . .	3,4	0,3
„	30°,	„	7 „	. . . .	3,8	0,3
„	30°,	„	15 „	. . . .	3,45	0,3
10-proz.	20°,	„	8 „	. . . .	0,4	0,3
„	20°,	„	15 „	. . . .	0,6	0,3
„	20°,	„	2 Mon.	. . . .	9,3	0,3
„	30°,	„	1 „	. . . .	4,25	0,45

Schlußfolgerung: Der Organismus „Gülle c“ zeigt ein Verhalten, das ihn als *Bac. Pasteuri* zu betrachten gestattet, ein *Bac. Pasteuri* mit auffallend starkem Gelatineverflüssigungsvermögen einerseits und der Ungebundenheit in bezug auf Harnstoff und Ammonkarbonat in künstlichen Nährmedien andererseits. Auch auf die verschiedene Länge der Stäbchen wäre noch hinzuweisen.

Ebenso können wir aber „Gülle c“ auch als *Bac. Freudenreichii* auffassen mit besonders starkem Verflüssigungsvermögen und abweichendem Verhalten in der Stäbchenlänge. Auszuschließen ist jedenfalls *Urobac. miquelii* (Beijck.).

4. „Erde a“.

Vergleich mit der Beschreibung von „Gülle a“ und „Gülle b“.

Es besteht fast völlige Übereinstimmung zwischen den drei Stämmen.

Harnstoffvergärungsvermögen in Bouillon.

Mit luftdichtem Verschuß					„Erde a“	Sterile Nährflüssigkeit
1-proz. Harnstoffbouillon,	20°,	nach	8 Tagen	.	3,6	0,3
„	20°,	„	15 „	.	3,9	0,3
„	30°,	„	7 „	.	3,6	0,3
„	30°,	„	15 „	.	3,45	0,3
10-proz.	20°,	„	8 „	.	0,5 {Febr.}	0,3
„	20°,	„	15 „	.	0,5 {1912}	0,3
„	20°,	„	20 „	.	16,2 {Okt.}	0,9
„	20°,	„	38 „	.	26,0 {1911}	0,9
„	20°,	„	2 Mon.	.	0,6 {Febr.}	0,3
„	30°,	„	1 „	.	0,65 {1912}	0,45



**Schlußfolgerung:** In Anbetracht der beträchtlichen Gärkraft gegenüber Harnstoff kann der Organismus wohl als *Bac. Pasteuri* angesprochen werden. (Die Längendimensionen stimmen allerdings nicht überein.)

Über die im Verlaufe der Fortzüchtung bei „Erde a“ aufgetretenen Degenerationserscheinungen (Unfähigkeit, 10-proz. Harnstoffnährflüssigkeit zu vergären, Ausbleiben der Sporenbildung) siehe p. 259, 276, 287.

##### 5. „Erde b“.

Vergleich mit der Beschreibung von *Bac. Pasteuri* (Miquel) Migula von Löhnis und Kuntze.

Die Organismen zeigen verschiedene Dimensionen, wobei besonders auf die etwas stärkere Breitenausdehnung von „Erde b“ hingewiesen sei.

„Erde b“: 1—1¼ µ dick, 1½—5—10 µ lang.

*Bac. Pasteuri*: 1 µ dick, 2—4 µ lang.

Während *Bac. Pasteuri* beweglich ist, wurde bei „Erde b“ Lokomotion nie beobachtet. Ebenso fehlte immer die Sporenbildung, auf die ganz analog „Erde a“ geprüft wurde.

Auch im Verhalten gegenüber der Gramfärbung besteht nicht völlige Übereinstimmung, indem „Erde b“ nur schwach positiv ist.

Auf der 1-proz. Harnstoffgelatineplatte besteht etwelche Ähnlichkeit in bezug auf Größe und Aussehen der Kolonien. Hingegen wird bei „Erde b“ absolut keine Peptonisierung der Gelatine bemerkt.

Harnstoffgelatinestichkultur: „Erde b“ bildet reichlich Seitenäste, *Bac. Pasteuri* nicht.

„Erde b“ verflüssigt gar nicht.

Die Harnstoffbouillonkultur bietet keine wesentlichen Unterschiede.

„Erde b“ wächst sehr gut auf Fleischgelatine, Fleischagar, Dextrose-Agar, gewöhnlicher Bouillon im Gegensatz zu *Bacillus Pasteuri*.

Vergleich mit der Beschreibung von *Urobacillus pasteurii* Miquel von Beijerinck.

Die Breitendimensionen der beiden Stäbchen zeigen Annäherung:

„Erde b“: 1—1¼ µ dick, 1½—5—10 µ lang.

*Urobacillus pasteurii*: 1,5 µ dick, 4—5 µ lang.

Es bestehen sonst wieder eingreifende Unterschiede: „Erde b“ bildet keine Sporen, wohl aber *Urobac. pasteurii*; „Erde b“ ist unbeweglich, *Urobac. pasteurii* beweglich; „Erde b“ wächst auf den gewöhnlichen Nährböden, *Urobac. pasteurii* nur bei Gegenwart von freiem Ammonkarbonat oder in 10 Proz. Harnstoff enthaltenden Kulturmedium.

Vergleich mit der Beschreibung von *Urobac. leubei* n. sp. von Beijerinck.

Als übereinstimmendes Merkmal sei hier die völlig mangelnde Gelatineverflüssigung hervorgehoben. Auch die Dimensionen sind ziemlich übereinstimmend.

„Erde b“: 1—1¼ µ dick, 1½—5—10 µ lang.

*Urobac. leubei*: 1,5 µ dick, 3—5 µ lang, „bisweilen noch viel länger“.

Ferner wächst *Urobac. leubei* auch auf gewöhnlicher Fleischgelatine.

Im übrigen bestehen aber starke Divergenzen.

„Erde b“ bildet keine Sporen, hingegen *Urobac. leubei*.

„Erde b“ ist unbeweglich, *Urobac. leubei* beweglich.

Vergleich mit der Beschreibung von *Bacillus Freudenreichii* (Miquel) Migula von Löhnis.

Es bestehen die gleichen Unterschiede punkto Dimensionen, Sporenbildung, Beweglichkeit, Gramfärbbarkeit wie gegenüber *Bac. Pasteuri*.

Auf Fleischgelatineplatten wachsen die Kolonien von „Erde b“ schneller.

Bei *Bac. Freudenreichii* beträgt der Durchmesser nach 10 Tagen erst ca. 0,3 mm, bei „Erde b“ dagegen nach 9 Tagen 1—2 mm. Im Habitus der Kolonien besteht sonst ziemlich gute Übereinstimmung.

Auf Harnstoffgelatineplatten ist wiederum das Wachstum der Kolonien von „Erde b“ ein üppigeres.

*Bac. Freudenreichii* ergibt nach 4 Tagen Kolonien mit ca. 0,1 mm, „Erde b“ nach 5 Tagen solche mit ca. 1 mm Durchmesser.

Die Stichkulturen in Fleischgelatine und Harnstoffgelatine stimmen im großen Ganzen überein. „Erde b“ bildet in Harnstoffgelatine Seitenäste.

Beide Stämme verflüssigen die Gelatine nicht.

Auf Fleischagar wachsen beide Organismen kräftig.

Im übrigen keine wesentlichen Unterschiede.

#### Vergleich mit der Beschreibung von *Urobacillus miquelii* von Beijerinck.

Bestimmen wir die Dimensionen der Bilder von *Urobac. miquelii* und berechnen die wirkliche Größe nach der angegebenen Vergrößerung, so kommen wir auf ziemlich übereinstimmende Verhältnisse bei beiden verglichenen Stämmen.

*Urobacillus miquelii* ist beweglich, „Erde b“ nicht.

Beide Organismen bilden keine Sporen.

Was die Kolonie auf der Gelatineplatte anlangt, so besteht besonders gute Übereinstimmung zwischen den morphologischen Charakteren der Kolonien von *Urobac. miquelii* auf Fleischgelatine und derer von „Erde b“ auf Harnstoffgelatine.

Verflüssigung wurde allerdings bei „Erde b“ nie beobachtet, während *Urobac. miquelii* schwach verflüssigen kann.

#### Harnstoffvergärungsvermögen in Bouillon.

Mit luftdichtem Verschuß					„Erde b“	Sterile Nähr- flüssigkeit
1-proz. Harnstoffbouillon,	20°,	nach	8 Tagen	. . . .	2,4	0,3
„	20°,	„	15 „	. . . .	2,6	0,3
„	30°,	„	7 „	. . . .	1,4	0,3
„	30°,	„	15 „	. . . .	1,75	0,3
10-proz.	20°,	„	8 „	. . . .	0,5	0,3
„	20°,	„	15 „	. . . .	0,55	0,3
„	20°,	„	2 Mon.	. . . .	1,8	0,3
„	30°,	„	1 „	. . . .	0,55	0,45

ccm n/10-  
Säure  
pro 1 ccm  
Kultur-  
flüssig-  
keit

**Schlußfolgerung:** Bei diesem Mikroorganismus ist die Zahl der von *Bac. Pasteuri*, *Urobac. leubei* und *Bac. Freudenreichii* abweichenden Eigenschaften so groß, daß uns eine Abtrennung von „Erde b“ von den betreffenden Bazillen berechtigt erscheint. Hingegen ist die Ähnlichkeit mit *Urobac. miquelii* in Betracht zu ziehen. Immerhin ist unser Stamm unbeweglich und das sondert ihn auch von den Stammverwandten von *Urobac. miquelii*, dem *Bact. Zopfii* und *Proteus Zenkeri*. Auch das schwache Harnstoffvergärungsvermögen nähert unseren Stamm dem *Urobac. miquelii*.

#### 6. „Erde Münsingen“.

Vergleich mit der Beschreibung von „Gülle a“ und „Gülle b“.

Es besteht beinahe vollkommene Übereinstimmung. Besonders hervorgehoben seien folgende Merkmale von „Erde Münsingen“:

Auf Fleischgelatine wurde nie Wachstum beobachtet, auf Fleischagar ist es sehr kümmerlich, auf Dextroseagar und Kartoffel sowie in gewöhnlicher Bouillon und Milch fehlt es gänzlich.

In 1 proz. Harnstoffbouillon gedeiht der Organismus vortrefflich, ebenso in 10 proz. Auf ersterer bildet er eine gefaltete, derbe Kahlhaut.

#### Harnstoffvergärungsvermögen in Bouillon.

Ohne luftdichten Verschuß					„Erde Münsingen“	Sterile Nähr- flüssigkeit
1-proz. Harnstoffbouillon,	20°,	nach	4 Tagen	. . .	3,8	0,5
„	20°,	„	17 „	. . .	2,4	0,5
10-proz.	20°,	„	4 „	. . .	2,7	0,5
„	20°,	„	17 „	. . .	23,7	0,5

ccm n/10-  
Säure  
pro 1 ccm  
Kulturfl.

**Schlußfolgerung:** Hinsichtlich morphologisch-kulturellem und besonders fermentativem Verhalten dürfte die Diagnose *Bac. Pasteuri* für „Erde Münsingen“ Berechtigung haben. (Immerhin stimmen die Längendimensionen der Bazillen nicht überein!)

#### 7. „Gülle 3121“.

Vergleich mit der Beschreibung von „Gülle a“ und „Gülle b“.

Auch hier ist die Übereinstimmung befriedigend. Gegenüber „Erde Münsingen“ ist aber ein abweichendes Verhalten auf den Nährmedien ohne Harnstoffzusatz hervorzuheben. „Gülle 3121“ gedeiht freudig auf Fleischgelatine, Fleischagar, in gewöhnlicher Bouillon; sogar auf Dextrose-Agar tritt Wachstum ein, wobei zu bemerken ist, daß wir bei allen unseren Stämmen einen deutlich wachstumshemmenden Einfluß der Dextrose beobachten konnten.

#### Harnstoffvergärungsvermögen in Bouillon.

Ohne luftdichten Verschuß				Gülle 3121	Sterile Nährflüssigkeit
1-proz. Harnstoffbouillon,	20°, nach	4 Tagen	. . .	0,6	0,5 ccm n/10-
„	20°, „	17 „	. . .	1,6	0,5 Säure
10-proz. „	20°, „	4 „	. . .	2,65	0,5 pro 1 ccm
„	20°, „	17 „	. . .	5,8	0,5 Kulturfl.

**Schlußfolgerung:** Vergleichen wir die Charakteristik von „Gülle 3121“ mit der von den Autoren gegebenen von *Bac. Pasteuri*, *Urobac. leubei* und *Bac. Freudenreichii*, so werden wir verwandtschaftliche Beziehungen zwischen diesen Organismen zugeben müssen. Hervorzuheben ist hier aber, daß unser Stamm auf den gewöhnlichen Nährmedien noch kräftiger zu gedeihen scheint als *Bac. Freudenreichii*. So ist das Wachstum der Kolonien auf Fleischgelatine bei „Gülle 3121“ ein rascheres und ausgedehnteres. Nach 8 Tagen haben die Kolonien einen Durchmesser von 1½–5 mm, während *Bac. Freudenreichii* nach 10 Tagen Kolonien von erst ca. 0,3 mm Durchmesser aufweist.

Dieser Umstand berechtigt wohl, „Gülle 3121“ unter den drei Vergleichsorganismen dem *Bac. Freudenreichii* und *Urobac. leubei* näher zu stellen. Im gleichen Sinne ist das Harnstoffvergärungsvermögen zu bewerten.

#### 8. „Parzelle 93“.

Vergleich mit der Beschreibung von „Gülle a“ und „Gülle b“.

Es besteht fast vollständige Übereinstimmung. Auf Fleischagar tritt das Wachstum zunächst zögernd ein, wird aber nach einigen Tagen freudiger. Auf Fleischgelatine geht der Stamm kräftig an, auf Dextrose-Agar konnte keine Kultur gezüchtet werden.

#### Harnstoffvergärungsvermögen in Bouillon.

Ohne luftdichten Verschuß				„Parzelle 93“	Sterile Nährflüssigkeit
1-proz. Harnstoffbouillon,	20°, nach	4 Tagen	. . .	1,0	0,5 ccm n/10-
„	20°, „	17 „	. . .	3,1	0,5 Säure
10-proz. „	20°, „	4 „	. . .	5,2	0,5 pro 1 ccm
„	20°, „	17 „	. . .	13,1	0,5 Kulturfl.

**Schlußfolgerung:** Infolge morphologisch-kulturellem und fermentativem Verhalten ist „Parzelle 93“ dem *Bac. Pasteuri* am nächsten zu stellen.

#### 9. „Gartenland I“, „Gartenland II“, „Mist a“.

**Vorbemerkung:** Diese drei Stämme zeigen eine so große Ähnlichkeit unter sich, daß sie als identisch aufgefaßt werden dürfen und daher gleichzeitig betrachtet werden können.

Vergleich mit der Beschreibung von „Gülle a“ und „Gülle b“.

Gute Übereinstimmung. Die drei Stämme aus Gartenland und Mist wachsen nicht auf Fleischgelatine, Fleischagar, Dextroseagar, Fleischbouillon, Milch und Kartoffel.

In 1 Proz. Harnstoffbouillon ist das Wachstum kräftig, wobei die 3 Stämme unter sich geringe Abweichungen im Wachstumsmodus aufweisen.

#### Harnstoffvergärungsvermögen in Bouillon.

Mit luftdichtem Verschuß	„Gartenland I“	„Gartenland II“	„Mist a“	Sterile Nährflüssigkeit
1-proz. Harnstoffbouillon, 30°, nach 3 Tg.	2,7	3,85	1,8	0,5 ccm n/10-
„ „ „ 30°, „ 12 „	3,55	3,55	3,5	0,5 Säure
10-proz. „ „ 30°, „ 3 „	4,7	6,6; 12,4	9,2	0,7 pro 1 ccm
„ „ „ 30°, „ 6 „	17,3	18,6; 22,6	16,4	0,7 Kultur-
„ „ „ 30°, „ 12 „	30,0	25,0; 28,3	28,9	0,5 flüssigk.

Schlußfolgerung: Das morphologisch-kulturelle und ganz besonders das fermentative Verhalten der drei Stämme „Gartenland I“, „Gartenland II“ und „Mist a“ drängt zur Identifizierung mit *Bac. Pasteuri*. (In bezug auf die Länge der Organismen bestehen allerdings Differenzen.)

#### Vergleich unserer Versuchsorganismen mit den Stämmen *Bacillus ureae* I Burri, *Bacillus ureae* II Burri und *Bacillus ureae* III Burri (9).

##### 1. „Gülle a“.

	<i>Bac. ureae</i> I Burri	„Gülle a“
Die Dimensionen . . . . .	$\frac{3}{4} \times 10-25$ (Fäden)	$\frac{3}{4}-1 \times 1\frac{1}{2}-5-10$ (Fäden)
Beweglichkeit . . . . .	+	+
Sporen . . . . .	—	+
Harnstoffgelatineplatte . .	Raschere Verflüssigung	Langsamere Verflüssigung
Harnstoffgelatinestich . .	Morphologisch stimmen die Keine Seitenäste	Kolonien ziemlich gut überein Seitenäste
Gew. Gelatinestich . . . .	Sonst gute Übereinstimmung	
Vergärung . . . . .	Seitenäste 6,67 ccm n/10-Säure nach 6 Tagen (2-proz. H.-Bouillon 30°)	Kein Wachstum 3,5 ccm n/10-Säure nach 7 Tagen (1-proz. H.-Bouillon 30°)
	Also gute Übereinstimmung	

	<i>Bac. ureae</i> II Burri	„Gülle a“
Die Dimensionen . . . . .	$0,9-1 \times 2\frac{1}{2}-4-10$	$\frac{3}{4}-1 \times 1\frac{1}{2}-5-10$
Beweglichkeit . . . . .	—	+
Sporenbildung . . . . .	+	+
Harnstoffgelatineplatte . .	Verflüssigt Gelatine nie. (Höchstens nach 2—3 Monaten leichte Erweichung)	Verflüssigt Gelatine langsam
Stichkulturen . . . . .	Die morphologischen Verhältnisse der Kolonien stimmen schlecht überein	
Vergärung . . . . .	Keine Verflüssigung ohne Harnstoff: Wachstum verzögert 6,67 ccm n/10-Säure nach 12 Stunden (2-proz. H.-Bouillon 30°)	Langsame Verflüssigung ohne Harnstoff: Wachstum nicht eintretend Nach 24 Stunden keine Vergärung (1-proz. H.-Bouillon 30°)

	Bac. ureae III Burri	„Gülle a“
Die Dimensionen . . . . .	0,9—1,0 × 2—3—5 (Ketten)	$\frac{3}{4}$ —1 × 1 $\frac{1}{2}$ —5—10 (Ketten)
Beweglichkeit . . . . .	+	+
Sporenbildung . . . . .	+	+
Harnstoffgelatineplatte . .	Verflüssigt Gelatine in wenigen Tagen	Verflüssigt Gelatine langsamer
Stichkulturen . . . . .	Morphologische Übereinstimmung der Kolonien fraglich Keine wesentlichen Differenzen	
Vergärung . . . . .	Ohne Harnstoff: Wachstum 6,67 ccm n/10-Säure nach 12 Stunden (2-proz. H.-Bouillon 30°)	Ohne Harnstoff: Wachstum nicht eintretend Nach 24 Stunden keine Vergärung (1-proz. H.-Bouillon 30°)

**Schlußfolgerung:** Am besten decken sich die Angaben über Bac. ureae I (Burri) und „Gülle a“. Immerhin besteht eine Differenz im verschiedenen Verhalten betreffend die Sporenbildung. Nun ist aber nach den Ausführungen Beijerincks (3) das Sporenbildungsvermögen bei Fortzüchtung auf Gelatine kein konstantes Artmerkmal.

## 2. „Gülle b“.

Für diesen Organismus kommen wir bei der nahen Verwandtschaft mit „Gülle a“ zu den gleichen Ergebnissen beim Vergleich mit den Stämmen von Burri.

## 3. „Gülle c“.

	Bac. ureae I Burri	„Gülle c“
Die Dimensionen . . . . .	$\frac{3}{4}$ × 10—25 (Fäden)	$\frac{3}{4}$ —1 × 1 $\frac{1}{2}$ —5—8 (Fäden)
Beweglichkeit . . . . .	+	+
Sporenbildung . . . . .	—	+
Harnstoffgelatineplatte . .	Hinsichtlich Verflüssigung auffallend gute Übereinstimmung; ebenso bezüglich der morphologischen Verhältnisse der Kolonien	
Stichkulturen		
Harnstoffgelatine . . . . .	keine Seitenäste Verflüssigung vom 2. Tag an	Seitenäste
Gew. Gelatine . . . . .	Seitenäste	Keine Seitenäste
Vergärung . . . . .	6,67 ccm n/10-Säure nach 6 Tagen (2-proz. H.-Bouillon, 30°)	3,8 ccm n/10-Säure nach 7 Tagen (1-proz. H.-Bouillon, 30°)

**Schlußfolgerung:** Abgesehen vom verschiedenen Verhalten betreffend Sporenbildung liegt hier ziemlich gute Übereinstimmung mit Bac. ureae I Burri vor. Mit Bac. ureae III Burri besteht auch große Ähnlichkeit, abgesehen vom verschiedenen Gärvermögen:

	Bac. ureae III Burri	„Gülle c“
Vergärung . . . . .	6,67 ccm n/10-Säure nach 12 Stunden (2-proz. H.-Bouillon, 30°)	0,55 ccm n/10-Säure nach 24 Stunden (Sterile Nährfl. 0,3 ccm n/10-Säure); (1-proz. H.-Bouillon, 30°)

## 4. „Erde a“.

	Bac. ureae I Burri	„Erde a“
Dimensionen . . . . .	$\frac{3}{4} \times 10 - 25$ (Fäden)	$\frac{3}{4} - 1 \times 1\frac{1}{2} - 5 - 10$ (Fäden)
Beweglichkeit . . . . .	+	+
Sporenbildung . . . . .	—	+
Harnstoffgelatineplatte . .	Verflüssigung	Gelatine wird nur erweicht
Harnstoffgelatinestich . .	Morphologisch stimmen die Am 2. Tage beginnende Verflüssigung. Keine Sei- tenäste	Kolonien ziemlich gut überein Auflage und Seitenäste, Gelatine wird sehr langsam verflüssigt oder nur erweicht
Gew. Gelatinestich . . . .	Seitenäste	Kein Wachstum
Vergärung . . . . .	6,67 ccm n/10-Säure nach 6 Tagen (2-proz. H.-Bouil- lon, 30°)	3,6 ccm n/10-Säure nach 7 Tagen (1-proz. H.-Bouil- lon, 30°)
	Bac. ureae II Burri	„Erde a“
Dimensionen . . . . .	$0,9 - 1 \times 2\frac{1}{2} - 4 - 10$	$\frac{3}{4} - 1 \times 1\frac{1}{2} - 5 - 10$
Beweglichkeit . . . . .	—	+
Sporenbildung . . . . .	+	+
Harnstoffgelatineplatte . .	Verflüssigen Gelatine nicht.	
Harnstoffgelatinestich . .	Morphologie der Kolonien stimmt ungefähr überein Keine Seitenausläufer	Seitenausläufer
	Muldenbildung durch Gelatineresorption, nicht durch Verflüssigung Auflage	
Gew. Gelatinestich . . . .	Wachstum verzögert	Kein Wachstum
Vergärung . . . . .	6,67 ccm n/10-Säure nach 12 Stunden (2-proz. H.- Bouillon, 30°)	3,2 ccm n/10-Säure nach 24 Stunden (1-proz. H.- Bouillon, 30°)

**Schlußfolgerung:** Es besteht annähernder Parallelismus zwischen „Erde a“ und den beiden stärkeren Burrischen Harnstoffvergärrern, Bac. ureae II u. III. „Erde a“ besitzt ungefähr die gleiche „Gärungsschnelligkeit“. (Mit Bac. ureae II stimmt das Verhalten puncto Beweglichkeit nicht, mit Bac. ureae III dasjenige betreffend die Gelatineverflüssigung.)

## 5. „Erde b“.

	Bac. ureae I Burri	„Erde b“
Dimensionen . . . . .	$\frac{3}{4} \times 10 - 25$ (Fäden)	$1 - 1\frac{1}{4} \times 1\frac{1}{2} - 5 - 10$ (Fäden)
Beweglichkeit . . . . .	+	—
Sporenbildung . . . . .	—	—
Harnstoffgelatineplatte . .	Ziemlich rasche Gelatine- verflüssigung	Keine Gelatineverflüssi- gung
Harnstoffgelatinestich . .	In morphologischer Beziehung besteht deutliche Ver- wandtschaft der Kolonien	
	Am 2. Tage beginnt die Verflüssigung, keine Auf- lage und Seitenäste	Keine Verflüssigung, Auf- lage und Seitenäste
Gew. Gelatinestich . . . .	Seitenäste	Keine Seitenäste
Vergärung . . . . .	6,67 ccm n/10-Säure nach 6 Tagen (2-proz. H.-Bouil- lon, 30°)	1,4 ccm n/10-Säure nach 7 Tagen (1-proz. H.-Bouil- lon, 30°) 2,4 ccm n/10-Säure nach 8 Tagen (1-proz. H.-Bouil- lon, 20°)

	Bac. ureae II Burri	„Erde b“
Dimensionen . . . . .	0,9—1,0×2½—4—10	1—1¼×1½—5—10
Beweglichkeit . . . . .	—	—
Sporenbildung . . . . .	+	—
Harnstoffgelatineplatte . .	Verflüssigen Gelatine nicht	Morphologie der Kolonien ungefähr übereinstimmend
Harnstoffgelatinestich . .	Keine Seitenäste	Seitenäste
	Auflage	
	Keine Verflüssigung	
Gew. Gelatinestich . . . .	Wachstum verzögert	Wachstum nicht verzögert
Vergärung . . . . .	6,67 ccm n/10-Säure nach 12 Stunden (2-proz. H.-Bouillon, 30°)	0,8 ccm n/10-Säure nach 24 Stunden (1-proz. H.-Bouillon, 30°) (Sterile Nährflüssigkeit 0,3 ccm n/10-Säure)

Schlußfolgerung: Mit keinem der drei Stämme besteht große Ähnlichkeit. „Erde b“ ist ein schwächerer Harnstoffvergärer als Bac. ureae I.

#### 6. „Erde Münsingen“.

Vergärung:

„Erde Münsingen“	Bac. ureae I	Bac. ureae II	Bac. ureae III
2,4 ccm n/10-Säure nach 1 Tage (1-proz. H.-Bouillon, 20°)	6,67 ccm n/10-Säure nach 6 Tagen (2-proz. H.-Bouillon, 30°)	6,67 ccm n/10-Säure nach 12 Stunden (2-proz. H.-Bouillon, 30°)	6,67 ccm n/10-Säure nach 12 Stunden (2-proz. H.-Bouillon, 30°)
4,2 ccm n/10-Säure nach 3 Tagen (1-proz. H.-Bouillon, 20°)			

Da hier keine Kulturen bei 30° aufgestellt wurden, können wir die betreffenden Stämme nicht direkt vergleichen bezüglich „Gärungsschnelligkeit“. Es fällt so ein wertvolles Kriterium für die Identifizierung dahin. Wenn wir jedoch sehen, daß Bac. ureae II und Bac. ureae III nach 12 Stunden bei 30° 2-proz. Harnstoff (in 2-proz. Harnstoffbouillon) vergären, „Erde Münsingen“ aber nach 24 Stunden bei 20° ca. 0,75 Proz. Harnstoff (in 1-proz. Harnstoffbouillon), so werden wir kaum fehlgehen, wenn wir identische Vergärfähigkeiten annehmen.

Schlußfolgerung: Nach morphologisch-kulturellem und fermentativem Verhalten ist „Erde Münsingen“ dem Bac. ureae II und III näher zu stellen als dem Bac. ureae I. Hingegen stimmt mit Bac. ureae II das Verhalten betr. Beweglichkeit nicht, mit Bac. ureae III das Verhalten betr. Gelatineverflüssigung.

#### 7. „Gülle 3121“.

	Bac. ureae I Burri	„Gülle 3121“
Dimensionen . . . . .	¾×10—25 (Fäden)	¾—1×1½—5—10 (Fäden)
Beweglichkeit . . . . .	+	+
Sporenbildung . . . . .	—	+
Harnstoffgelatineplatte . .	Etwas raschere Verflüss.	Langsame Verflüssigung
Harnstoffgelatinestich . .	Morphologisch ziemlich gute Übereinstimmung der Kolonien	
	Keine Seitenausläufer	Seitenausläufer
	Keine Auflage	Auflage
	Verflüssigung ungefähr gleich	
Gew. Gelatinestich . . . .	Seitenausläufer in beiden Fällen	
Vergärung . . . . .	6,67 ccm n/10-Säure nach 6 Tagen (2-proz. H.-Bouillon, 30°)	2,0 ccm n/10-Säure nach 11 Tagen (1-proz. H.-Bouillon, 20°)

	Bac. ureae II Burri	„Gülle 3121“
Dimensionen . . . . .	0,9—1,0 × 2½—4—10	¾—1 × 1½—5—10
Beweglichkeit . . . . .	—	+
Sporenbildung . . . . .	+	+
Harnstoffgelatineplatte . .	Keine Verflüssigung	Langsame Verflüssigung
	Morphologisch gute Übereinstimmung der Kolonien	
Harnstoffgelatinestich . .	Keine Verflüssigung, Auflage	Langsame Verflüssigung, Auflage
	Keine Seitenäste	Seitenäste
Gew. Gelatinestich . . . .	Wachstum verzögert	Wachstum etwas verzögert
Vergärung . . . . .	6,67 ccm n/10-Säure nach 12 Stunden (2-proz. H.-Bouillon, 30°)	0,6 ccm n/10-Säure nach 24 Stunden (sterile Nährflüssigkeit 0,5 ccm n/10-Säure) (1-proz. H.-Bouillon, 20°)

**Schlußfolgerung:** „Gülle 3121“ hat größere Verwandtschaft mit dem schwächer vergärenden Bac. ureae I. Auch morphologisch-kulturell besteht, abgesehen von der Sporenbildung, ein gewisser Parallelismus.

#### 8. „Parzelle 93“.

	Bac. ureae I Burri	„Parzelle 93“
Dimensionen . . . . .	¾ × 10—25 (Fäden)	¾—1 × 1—5—10 (Fäden)
Beweglichkeit . . . . .	+	+
Sporenbildung . . . . .	—	+
Harnstoffgelatineplatte . .	Etwas raschere Verflüssigung	Gelatineerweichung
	Morphologisch gute Übereinstimmung der Kolonien	
Harnstoffgelatinestich . .	Keine Seitenäste	Seitenäste und Auflage
	Keine Auflage	
Gew. Gelatinestich . . . .	Verflüssigung schneller	Verflüssigung langsamer
Vergärung . . . . .	Seitenausläufer	Keine Seitenausläufer
	6,67 ccm n/10-Säure nach 6 Tagen (2-proz. H.-Bouillon, 30°)	3,4 ccm n/10-Säure nach 11 Tagen (1-proz. H.-Bouillon, 20°)

	Bac. ureae II Burri	„Parzelle 93“
Dimensionen . . . . .	0,9—1,0 × 2½—4—10	¾—1 × 1—5—10
Beweglichkeit . . . . .	—	+
Sporenbildung . . . . .	+	+
Harnstoffgelatineplatte . .	Keine Verflüssigung	Gelatineerweichung
	Morphologisch gute Übereinstimmung der Kolonien	
Harnstoffgelatinestich . .	Keine Verflüssigung, Auflage	Langsame Verflüssigung, Auflage und Seitenäste
	Keine Seitenäste	
Gew. Gelatinestich . . . .	Wachstum verzögert	Wachstum nicht verzögert
Vergärung . . . . .	6,67 ccm n/10-Säure nach 12 Stunden (2-proz. H.-Bouillon, 30°)	0,5 ccm n/10-Säure nach 24 Stunden (1-proz. H.-Bouillon, 20°) (Sterile Nährflüssigk. 0,5)



**Schlußfolgerung:** In bezug auf das fermentative Vermögen nimmt „P a r z e l l e 93“ eine Mittelstellung ein zwischen „E r d e M ü n s i n g e n“ als starkem und „G ü l l e 3121“ als schwachem Vergärer. Dieser Stamm weist anscheinend zu keinem der drei Organismen von Burri eine Vorzugstellung auf.

## 9. „Gartenland I“, „Gartenland II“, „Mist a“.

	Bac. ureae I Burri	„Gartenland I“ usw.
Dimensionen . . . . .	$\frac{3}{4} \times 10-25$ (Fäden)	$\frac{3}{4}-1 \times 1\frac{1}{2}-5-10$ (Fäden)
Beweglichkeit . . . . .	+	+
Sporenbildung . . . . .	—	+
Harnstoffgelatineplatte . .	Verflüssigung	Keine Verflüssigung
	Morphologisch zeigen die Kolonien viel verwandtschaftliche Beziehungen	
Harnstoffgelatinestich . .	Keine Seitenausläufer	Seitenausläufer
	Keine Auflage	Auflage vorhanden
Gew. Gelatinestich . . . .	Wachstum	Kein Wachstum
Vergärung . . . . .	6,67 ccm n/10-Säure nach 6 Tagen (2-proz. H.-Bouillon, 30°)	3,7 ccm (Durchschnitt) n/10-Säure nach 5 Tagen (1-proz. H.-Bouillon, 30°)

	Bac. ureae II Burri	„Gartenland I“ usw.
Dimensionen . . . . .	$0,9-1,0 \times 2\frac{1}{2}-4-10$	$\frac{3}{4}-1 \times 1\frac{1}{2}-5-10$
Beweglichkeit . . . . .	—	+
Sporenbildung . . . . .	+	+
Harnstoffgelatineplatte . .	Keine Verflüssigung	Keine Verflüssigung
	Kolonien weisen morphologisch gute Übereinstimmung auf	
Harnstoffgelatinestich . .	Keine Verflüssigung	Keine Verflüssigung
	Keine Seitenäste	Seitenäste vorhanden
	Auflage vorhanden	
Gew. Gelatinestich . . . .	Wachstum verzögert	Kein Wachstum
Vergärung . . . . .	6,67 ccm n/10-Säure nach 12 Stunden (2-proz. H.-Bouillon, 30°)	3,85 ccm n/10-Säure („Gartenland II“) <sup>1)</sup> , nach 3 Tagen (1-proz. H.-Bouillon, 30°) (vor Ablauf von 3 Tagen wurden keine aëroben Kulturen titriert)

**Schlußfolgerung:** Unsere drei Stämme „Gartenland I u. II“ und „Mist a“ mögen zu Bac. ureae II gestellt werden. Wenn auch das Vergärungsvermögen nicht an genau sich entsprechenden Werten verglichen werden kann, ist doch als sicher anzunehmen, daß diese Organismen zu den Stämmen mit großer „Gärungsschnelligkeit“ gehören; denn Gärungsschnelligkeit und quantitatives Gärvermögen gehen parallel. Daß letzteres in hohem Grade vorhanden ist, zeigen unsere Titrierungen an 10-proz. Harnstoffbouillonkulturen.

<sup>1)</sup> „Gartenland I“ und „Mist a“ ergeben hier geringere Zahlen: 2,7 resp. 1,8, nach 2 weiteren Tagen sind diese wohl akzidentellen Differenzen verschwunden. In 10-proz. Harnstoffbouillon ist die hohe Gärkraft allen drei Stämmen in gleichem Grade zu eigen.

**Übersicht über den Parallelismus unserer Versuchsmikroorganismen mit den in der Literatur genauer beschriebenen Harnstoff vergärenden Kleinwesen.**

	Bac. Pasteuri	Urobac. Leubei	Urobac. Freuden- reichii	Urobac. Miquelii	I	Bac. ureae II Burri	III
„Gülle a“ . . . .	×	×	×		(×)		
„Gülle b“ . . . .	×	×	×		(×)		
„Gülle c“ . . . .	×		×		(×)		
„Erde a“ . . . .	× × ×					×	×
„Erde b“ . . . .				×			
„Erde Münsingen“	× × ×					×	×
„Gülle 3121“ . .	(×)	×	×		(×)		
„Parzelle 93“ . .	× ×				(×)	(×)	(×)
„Gartenland I“ .	× × ×					× ×	
„Gartenland II“ .	× × ×					× ×	
„Mist a“ . . . .	× × ×					× ×	

**Das Harnstoffhydratationsvermögen in Nährbouillon.**

Vor der Prüfung des anaëroben Verhaltens unserer Organismen in harnstoffhaltigen Nährflüssigkeiten, dem Endziel der Versuche, galt es zunächst, das physiologisch-chemische Geschehen in diesem Milieu bei ungehindertem Zutritt des Luftsauerstoffes kennen zu lernen. Um den Pilzen Gelegenheit zu möglichst ungehinderter Entfaltung ihrer harnstoffspaltenden Fähigkeit zu geben, wählten wir vorerst einen a priori als zusagend zu beurteilenden Nährboden, nämlich die gebräuchliche Fleischbouillon mit 2 verschiedenen großen Zusätzen von Harnstoff, das eine Mal 1 Proz., das andere Mal 10 Proz. (1mal ausnahmsweise 2 Proz.).

In weite, sterilisierte Reagenzgläser wurde je 1 ccm  $\frac{1}{2}$  Stunde bei  $\frac{1}{2}$  Atmosphäre sterilisierte, 20proz. wässrige Harnstofflösung pipettiert und je 19 ccm sterile Bouillon zugefügt. Das ergab die 1proz. Harnstoffbouillon.

Ebenso wurden für die 10proz. Harnstoffbouillon je 4 ccm 50proz. Harnstofflösung und 16 ccm Bouillon zusammengebracht.

Nach gründlichem Mischen wurden die Röhrchen zur Prüfung auf Sterilität 2 Tage bei 30° aufgestellt.

Die Impfung erfolgte durch jeweiligen Zusatz von 0,1 ccm einer 1—2 Tage alten, bei 20° C gewachsenen 1proz. Harnstoffbouillonkultur.

Nicht immer wurden die Kulturen unter genau den gleichen Bedingungen gehalten. Wir variierten sowohl die Temperatur, indem wir 20 oder 30° wählten, als auch den Abschluß der Kulturen gegen die äußere Luft. Bald verschlossen wir die Röhrchen luftdicht mit Kautschukpfropfen, bald ließen wir sie mit der Umgebung in Kommunikation. Den hermetischen Abschluß wählten wir, wenn es uns darauf ankam, möglichst alles gebildete Ammoniak in der Bouillon zur Ansammlung gelangen zu lassen, also Verdunstungsverluste zu vermeiden; den nicht luftdichten Abschluß hingegen benutzten wir, um die Kulturen der Einwirkung des Luftsauerstoffes in noch ausgiebigerer Weise auszusetzen.

Um den Grad der Harnstoffhydratation festzustellen, wurde den Kulturen in bestimmten Zeitintervallen je 1 ccm mittels steriler Pipette entnommen, der, in 10 ccm destilliertes Wasser (in einem Becherglas) gebracht, mit n/10-Schwefelsäure titriert wurde; Methylorange diente als Indikator. Die Zahlen

in den folgenden Tabellen bedeuten die Anzahl der verbrauchten ccm n/10-Säure. Daraus läßt sich der Harnstoffgehalt sehr einfach berechnen. Nach Beijerinck (7) besteht folgende Beziehung: Wenn 100 ccm einer ursprünglich neutralen, harnstoffhaltigen Kulturflüssigkeit 100 ccm Normalsäure zur Neutralisation erfordern, so enthielt die Kulturflüssigkeit 3 Proz. Harnstoff, der jetzt in 4,8 Proz. Ammonkarbonat umgewandelt ist. 1 Proz. verschwundener Harnstoff entspricht also ca. 33,3 ccm Normalsäure pro 100 ccm Kulturflüssigkeit.

Bei der ersten Gruppe der untersuchten Mikroorganismen: Gülle a, b und c, Erde a und b hatten wir Gelegenheit, mittels des Vergärungsversuches eine wichtige Eigentümlichkeit der Harnstoffvergärer festzustellen, nämlich das schwankende Verhalten der Gärkraft. Es seien die betreffenden Daten wiedergegeben:

„Gülle a“ im April 1911 isoliert  
 „Gülle b“ „ Juni „ „  
 „Gülle c“ „ „ „ „  
 „Erde a“ „ „ „ „  
 „Erde b“ „ April „ „

Versuch vom 16. August bis 11. September 1911.

2-proz. Harnstoffbouillon unter luftdichtem Verschuß bei 20° C.

	26 Tage alt
Gülle a . . . . .	2,8
Gülle b . . . . .	6,8
Gülle c . . . . .	6,4
Erde a . . . . .	7,5
Erde b . . . . .	4,5
Kontrolle steril .	0,5

Versuch vom 10. September bis 18. Oktober 1911.

10-proz. Harnstoffbouillon unter luftdichtem Verschuß bei 20° C.

	20	38
	Tage alt	
Gülle a . .	13,0	14,0
Gülle b . .	17,0	17,5
Gülle c . .	7,2	8,5
Erde a . .	16,2	26,0
Erde b . .	1,7	2,5
Kontrolle .	0,9	0,9

Versuch vom 24. Januar bis 25. März 1912.

1. 1-proz. Harnstoffbouillon unter luftdichtem Verschuß bei 20° C.

	4	5	8	11	15	20	33	60
	Tage alt							
Gülle a . . . . .	0,8	0,9	1,8	2,8	3,5	3,8	3,75	3,75
Gülle b . . . . .	0,8	1,3	2,2	3,1	3,2	3,5	3,5	3,55
Gülle c . . . . .	0,8	0,9	2,1	3,3	3,4	3,55	3,45	3,5
Erde a . . . . .	3,6	3,7	3,6	3,5	3,9	3,6	3,45	3,55
Erde b . . . . .	1,8	1,8	2,4	2,4	2,6	2,7	2,65	2,8
Kontrolle . . . . .	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,35

18\*

## 2. 1-proz. Harnstoffbouillon unter luftdichtem Verschuß bei 30° C.

	1	2	3	5	7	8	11	15	27
	Tage alt								
Gülle a . . . . .	0,3	0,5	0,8	2,85	3,5	3,6	3,4	3,5	3,5
Gülle b . . . . .	0,6	1,45	2,05	3,25	3,65	3,4	3,4	3,6	3,55
Gülle c . . . . .	0,55	1,8	2,45	3,6	3,8	3,5	3,5	3,45	3,5
Erde a . . . . .	3,2	3,7	3,5	3,5	3,6	3,65	3,4	3,45	3,4
Erde b . . . . .	0,8	1,1	1,2	1,4	1,4	1,45	1,65	1,75	2,2
Kontrolle . . . . .	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

## 3. 10-proz. Harnstoffbouillon unter luftdichtem Verschuß bei 20° C.

	4	5	8	11	15 <sup>1)</sup>	20	33	60
	Tage alt							
Gülle a . . . . .		1,3	4,4	7,9	7,2	8,0	8,6	11,1
Gülle b . . . . .	2,5	3,0	6,2	9,1	8,2	8,2	8,6	8,9
Gülle c . . . . .		0,3	0,4	0,4	0,6	3,05	9,15	9,3
Erde a . . . . .		0,5	0,5	0,4	0,5	0,5	0,55	0,6
Erde b . . . . .		0,5	0,5	0,6	0,55	0,6	1,15	1,8
Kontrolle . . . . .	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

## 4. 10-proz. Harnstoffbouillon unter luftdichtem Verschuß bei 30° C.

	1	2	3	5	7	8	11	16	28
	Tage alt								
Gülle a . . . . .	0,45	0,45	0,5	0,45	0,45	0,45	0,45	0,5	0,6
Gülle b . . . . .	0,65	1,45	2,6	6,0 <sup>2)</sup>	6,65	6,55	6,7	6,9	7,5
Gülle c . . . . .	0,35		0,35	0,3	0,35	0,4	0,35	0,55	4,25
Erde a . . . . .	0,6		0,65	0,65	0,6	0,6	0,6	0,65	0,65
Erde b . . . . .	0,4		0,4	0,4	0,4	0,4	0,45	0,4	0,55
Kontrolle . . . . .	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,45

Der Stamm „Erde a“ wurde im Juni 1911 isoliert, griff vom 10. September bis 18. Oktober 1911 Harnstoff in 10proz. Konzentration energisch an (in 38 Tagen bei 20° ca. 7,6 Proz. vergoren), verhielt sich gegenüber dieser Konzentration aber schon vom 24. Januar bis 25. März 1912 völlig untätig. Es war offenbar durch die künstliche Fortzüchtung bereits eine Abschwächung eingetreten, die sich aber erst bei höherer Harnstoffkonzentration geltend machte.

Eine Abnahme der Vergärungsenergie ist auch eingetreten bei „Gülle a“ und „Gülle b“. Ersterer Stamm vergor in 10proz. Harnstoffbouillon in 38 Tagen bei 20° C im Herbst 1911 ca. 4 Proz. Harnstoff, letzterer 5 Proz. Anfangs 1912 aber setzten beide Stämme unter den gleichen Bedingungen in 33 Tagen nur noch ca. 2,5 Proz. um.

Umgekehrt wurde das Verhalten von „Gülle c“ ein wenig besser: Im Herbst 1911 in 38 Tagen in 10proz. Harnstoffbouillon bei 20° C 2,3 Proz. Harnstoff vergoren. Anfangs 1912 in 33 Tagen in 10proz. Harnstoffbouillon bei 20° C 2,7 Proz. Harnstoff vergoren.

<sup>1)</sup> Am 15. Tage wurde eine noch ungebrauchte, gleich alte Kultur titriert. Daher die Unterbrechung im gleichmäßigen Anstieg der Werte.

<sup>2)</sup> Bouillon nur wenig getrübt.

Der schwächste der 5 Stämme ist „Erde b“. Auch seine Gärkraft nimmt im Verlaufe der Versuche ab: Im Herbst 1911 in 38 Tagen in 10 proz. Harnstoffbouillon bei 20° C 0,5 Proz. Harnstoff vergoren. Anfangs 1912 in 33 Tagen in 10 proz. Harnstoffbouillon bei 20° C 0,3 Proz. Harnstoff vergoren.

Wenn auch „Gülle a“ und „Gülle b“ gewiß zur gleichen Spezies zu rechnen sind, so unterscheiden sie sich doch individuell voneinander durch ihr physiologisch-chemisches Verhalten. „Gülle b“ verhält sich als etwas kräftigerer Harnstoffvergärer sowohl was die Gärungsschnelligkeit als auch das quantitative Gärungsvermögen anlangt. Im gleichen Sinne spricht das Angehen von „Gülle b“, resp. Versagen von „Gülle a“ in 10 proz. Harnstoffbouillon bei 30° C.

Es ist noch hinzuweisen auf die lange „Inkubationszeit“, die der Stamm „Gülle c“ in 10 proz. Harnstoffbouillon zur Entwicklung braucht, während sein Verhalten in 1 proz. Harnstoffbouillon das gewöhnliche ist. Wäre das eigenartige Verhalten in beiden Konzentrationen vorhanden, so müßte man dasselbe wohl dem Umstande zuschreiben, daß wir unsere Nährböden nicht speziell alkalisieren haben. Da das aber nicht der Fall ist, müssen wir nach einer anderen Erklärung suchen. Verfolgen wir das Ansteigen der Titerwerte bei „Gülle c“ und „Erde a“. In 1 proz. Harnstoffbouillon zeichnet sich „Erde a“ durch sehr große Gärungsschnelligkeit aus, bei 30° wird 1 Proz. innert 24 Stunden vollständig vergoren. „Gülle c“ läßt eine Tätigkeit auch schon am ersten Tage nach der Impfung erkennen. Stellen wir diesen Angaben das Verhalten der beiden Stämme in der 10 proz. Harnstoffbouillon entgegen. „Erde a“ geht Anfangs 1912 gar nicht mehr an, „Gülle c“ erst zwischen dem 16. und 28. Tage nach der Impfung bei 30° C. Es scheint also, als ob bei beiden Stämmen die hohe Harnstoffkonzentration hemmend eingewirkt hätte. Vielleicht wäre das Hindernis durch stärkere Alkalisierung überwunden worden. —

Nachdem sich dieser beinahe allgemeine Rückgang der Gärfähigkeit gegenüber 10 proz. Harnstoffbouillon innerhalb so kurzer Zeit gezeigt hatte, hielten wir es für unerläßlich — wollten wir mit den bisher gewonnenen und charakterisierten Stämmen weitere Versuche anstellen —, gleichsam als Kontrolle neue Mikroorganismen zu isolieren und so rasch als möglich weiter zu verarbeiten, um ihnen überhaupt keine Zeit zur Entwicklung degenerativer Erscheinungen zu geben. Wir gewannen daher

„Erde Münsingen“ im Juni 1912  
 „Gülle 3121“                    „    „    „  
 „Parzelle 93“                    „    „    „

#### Versuch vom 1. Juli bis 31. Juli 1912.

##### 1. 1-proz. Harnstoffbouillon ohne luftdichten Verschuß bei 20° C.

	1	4	11	17	30
	Tage alt				
Erde Münsingen . . . . .	2,4	3,8	3,1	2,4	1,8
Gülle 3121 . . . . .	0,6	0,6	1,2	1,6	1,5
Parzelle 93 . . . . .	0,5	1,0	3,1	3,1	2,1
Kontrolle . . . . .	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

## 2. 10-proz. Harnstoffbouillon ohne luftdichten Verschuß bei 20° C.

	1	4	11	17	30
	Tage alt				
Erde Münsingen . . . . .	0,7	2,7	15,0	23,7	20,2
Gülle 3121 . . . . .	0,6	2,65	6,0	5,8	4,2
Parzelle 93 . . . . .	0,7	5,2	11,8	13,1	9,2
Kontrolle . . . . .	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

## Versuch vom 16. August bis 16. September 1912.

## 1. 1-proz. Harnstoffbouillon ohne luftdichten Verschuß bei 20° C.

	3	11	17	31
	Tage alt			
Erde Münsingen . . . . .	4,2	3,0	2,5	1,7
Gülle 3121 . . . . .	0,6	2,0	2,2	1,7
Parzelle 93 . . . . .	1,2	3,4	2,8	2,0
Kontrolle . . . . .	0,5	0,5	0,5	0,5

## 2. 10-proz. Harnstoffbouillon ohne luftdichten Verschuß bei 20° C.

	3	11	17	31
	Tage alt			
Erde Münsingen . . . . .	0,8	6,8	23,6	23,1
Gülle 3121 . . . . .	2,8	7,2	5,4	3,3
Parzelle 93 . . . . .	4,0	11,2	10,5	5,9
Kontrolle . . . . .	0,4	0,4	0,4	0,4

Die 3 Stämme „Erde Münsingen“, „Gülle 3121“ und „Parzelle 93“ haben also in der Zeit vom 1. Juli bis 16. September keine Einbuße an ihrer Gärkraft erlitten; zum größten Teil in diesen Zeitraum fallen aber die mit ihnen angestellten weiteren Versuche.

Ebenso sind wir bei den im November 1912 rein gezüchteten Stämmen „Gartenland I“, „Gartenland II“, „Mist a“ sicher, mit in voller Gärkraft befindlichen Mikroorganismen gearbeitet zu haben. Hier fielen die Vergärungsversuche sogar zeitlich etwas hinter die andern.

## Versuch vom 15. Januar bis 18. Februar 1913.

## 1. 1-proz. Harnstoffbouillon unter luftdichtem Verschuß bei 30° C.

	3	5	12	34
	Tage alt			
Gartenland I . . . . .	2,7	3,65	3,55	3,7
Gartenland II (a) . . . . .	3,85	3,75	3,55	3,8
Gartenland II (b) . . . . .	3,85	3,75	3,6	3,6
Mist a . . . . .	1,8	3,65	3,5	3,8
Kontrolle . . . . .	0,5	0,5	0,5	0,5

## 2. 10-proz. Harnstoffbouillon unter luftdichtem Verschuß bei 30° C.

	1	3	6	20
	Tage alt			
Gartenland I . . . . .	1,4	4,7	17,3	24,0
Gartenland II (a) . . . . .	1,9	6,6	18,6	26,0
Gartenland II (b) . . . . .	2,5	12,4	22,6	25,0
Mist a . . . . .	1,6	9,2	16,4	18,5
Kontrolle . . . . .	0,7	0,7	0,7	0,7

3. Eine 2. Serie mit 10-proz. Harnstoffbouillon bei 30°, bei der der luftdichte Verschuß vor dem 12. Tage nie entfernt worden war, ergab:

	12 Tage alt
Gartenland I . . . . .	30,0
Gartenland II (a) . . . . .	25,0
Gartenland II (b) . . . . .	28,3
Mist a . . . . .	28,9
Kontrolle . . . . .	0,5

## Das Harnstoffhydratationsvermögen im Kuhharn.

Nachdem wir uns mit dem fermentativen Verhalten der Versuchsmikroorganismen in flüssigen Nährböden unter optimalen Ernährungsbedingungen bekannt gemacht hatten, war es noch von Interesse, ihre Funktionen kennen zu lernen, wenn sie sich in dem in der Natur ihnen zusagenden flüssigen Milieu, der Jauche befanden. Unter den Bedingungen, wie sie durch das Schependorfer Verfahren, auf das es uns hier besonders ankommt, gegeben sind, handelt es sich dabei um eine Flüssigkeit, deren Hauptbestandteil der Kuhharn ist. Durch die Filtriervorrichtungen werden nur die größeren Stroh- und Kotpartikel zurückgehalten, die kleineren hingegen mischen sich dem Harne bei, mit ihm zusammen die Jauche bildend.

Wir prüften daher zunächst das Verhalten im Kuhharn allein, als der Grundlage von ziemlich konstanter Zusammensetzung, alsdann machten wir noch Zusätze von Stroh- und Kotextrakt. Auf diese Weise stellten wir uns gewissermaßen eine künstliche Jauche her. Da der Harnstoff den Harnstoffvergärrern unter keinen Umständen als Kohlenstoffquelle dienen kann, da aber andererseits nur eine sehr geringe Menge einer geeigneten Kohlenstoffverbindung notwendig ist für die normale Harnstoffhydratation (S ö h n - g e n (22), so war anzunehmen, daß die Mikroorganismen, wenn nicht im Kuhharn allein, so doch in der Jauche zur vollen Entfaltung ihrer Gärkraft gelangen konnten. Zur Kontrolle wurden die Spaltpilze außerdem in mit Pepton W i t t e versetzten Kuhharn geimpft; es wurde ihnen so ein reichliches Kohlenstoffangebot gemacht wie es in den verwendeten Harnstoffbouillons bestand. Endlich wurden die Bazillen in Peptonlösung in Leitungswasser übertragen, zum Nachweis der Tatsache, daß aus Pepton allein Ammoniak nicht in wesentlicher Menge gebildet wird.

Zur Vorbereitung des Kuhharns als Nährmedium war es nötig, ihn keimfrei zu machen. Wir schlugen dabei 2 Wege ein: Entweder 1 stündige Sterilisierung bei  $\frac{1}{2}$  Atmosphäre oder Filtration durch Chamberland-Tonkerzen. Das erstere Verfahren erwies sich als nicht gut geeignet für unsere Zwecke. Es bildete sich nämlich durch die Erhitzung ein voluminöser Bodensatz von ausgefallenen Salzen usw. Beim Titrieren mußte darauf Rücksicht genommen werden, da der Bodensatz dabei die alkalische Reaktion erhöhte, indem er sich auflöste. Wir schüttelten darum die Röhren gut durch vor

der Probeentnahme mittels Pipette, um immer möglichst die gleiche Menge des Sedimentes mitzunehmen. Immerhin dürften sich kleine Fehler kaum vermeiden lassen.

Es wurde daher fernerhin nur noch der durch Tonkerzen filtrierte Harn für die Versuche herangezogen.

Die Zusatzlösungen für diesen wurden folgendermaßen hergestellt:

Das Strohdekot. 1 Gewichtsteil Stroh gemahlen

9 Gewichtsteile Wasser

1 Stunde im Dampftopf, Filtrieren, Sterilisieren  $\frac{3}{4}$  Std. bei 0,5 Atmosphären Überdruck.

Das Kuhfaecesdekot. 1 Teil Faeces

4 Teile Wasser

1 Stunde im Dampftopf, Filtrieren, Sterilisieren  $\frac{3}{4}$  Std. bei 0,5 Atmosphären Überdruck.

Zu je 20 ccm durch Tonkerzen filtrierten Harn wurden folgende Zusätze gemacht:

1 ccm Strohdekot;

1 ccm Kuhfaecesdekot;

1 ccm 10 proz. filtrierter, sterilisierter Peptonlösung.

Zur Impfung wurde wieder je 0,1 ccm einer 1—2 Tage alten, bei 20° C gewachsenen, 1 proz. Harnstoffbouillonkultur verwendet.

Versuch vom 24. Januar bis 25. März 1912.

1. Durch Hitze sterilisierter Kuhharn unter luftdichtem Verschuß bei 20° C.

	9	12	17	22	34	60
	Tage alt					
Gülle a . . . . .	3,2	3,7	4,5	5,05	5,55	6,45
Gülle b . . . . .	3,3	3,3	4,7	5,25	6,0	6,4
Gülle c . . . . .	3,2	3,2	3,3	3,1	3,35	3,5
Erde a . . . . .	4,3	5,4	4,3	4,5	6,65	6,15
Erde b . . . . .	3,3	3,2	3,2	3,4	3,2	3,5
Kontrolle . . . . .	3,1	3,1	3,3	3,2	3,4	3,35

2. Durch Hitze sterilisierter Kuhharn unter luftdichtem Verschuß bei 30° C.

	3	5	7	8	11	18	28
	Tage alt						
Gülle a . . . . .	3,4	4,25	5,05	5,65	5,55	6,1	6,3
Gülle b . . . . .	4,25	4,85	5,45	6,05	6,1	6,3	6,5
Gülle c . . . . .	3,45	3,25	3,55	3,5	3,35	3,35	3,3
Erde a . . . . .	6,55	6,35	6,05	6,1	6,5	6,45	6,6
Erde b . . . . .	3,3	3,15	3,3	3,2	3,35	3,35	3,25
Kontrolle . . . . .	3,1	3,15	3,3	3,3	3,1	3,3	3,1

3. Durch Tonkerzen filtrierter Kuhharn unter luftdichtem Verschuß bei 20° C.

	9	12	17	22	35	60
	Tage alt					
Gülle a . . . . .	2,1	2,4	2,3	2,4	2,6	2,45
Gülle b . . . . .	2,3	2,4	2,45	2,4	2,55	2,45
Gülle c . . . . .		2,4	2,45	2,45	2,45	2,45
Erde a . . . . .	2,8	4,7	6,35	6,9	7,6	7,15
Erde b . . . . .		2,4	2,5	2,55	2,55	2,5
Kontrolle . . . . .	2,4	2,4	2,4	2,45	2,45	2,4



## 4. Durch Tonkerzen filtrierter Kuhharn unter luftdichtem Verschuß bei 30° C.

	3	5	7	8	11	18	32
	Tage alt						
Gülle a . . . . .	2,6	3,2	4,1	4,5	5,45	6,2	6,6
Gülle b . . . . .	3,65	4,0	4,6	5,25	5,8	7,0	6,8
Gülle c . . . . .	2,8	2,8	3,0	3,1	3,55	3,8	3,9
Erde a . . . . .	5,75	6,1	6,6	6,35	6,65	7,05	7,45
Erde b . . . . .	2,7	2,7	2,85	3,0	3,35	3,3	3,65
Kontrolle . . . . .	2,6	2,6	2,55	2,55	2,55	2,55	2,55

Versuch vom 12. April bis 24. Mai 1912.

## 1. Mit Strohdekot versetzter, durch Tonkerzen filtrierter Kuhharn unter luftdichtem Verschuß bei 30° C.

	1	4	8	14	20	42
	Tage alt					
Gülle a . . . . .	1,55	1,6	1,6	1,65	1,6	1,6
Gülle b . . . . .	1,55	1,55	1,65	1,55	1,6	1,75
Gülle c . . . . .	1,55	1,6	1,65	1,6	1,65	1,7
Erde a . . . . .	1,55	1,65	1,9	4,6	5,6	5,9
Erde b . . . . .	1,55	1,7	1,6	1,7	1,7	1,9
Kontrolle . . . . .	1,55	1,55	1,6	1,6	1,6	1,7

## 2. Mit Kuhfaecesdekot versetzter, durch Tonkerzen filtrierter, unter luftdichtem Verschuß gehaltener Kuhharn bei 30° C.

	1	4	8	14	20	42
	Tage alt					
Gülle a . . . . .	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,7
Gülle b . . . . .	1,6	1,6	1,6	1,55	1,65	1,75
Gülle c . . . . .	1,6	1,6	1,6	1,6	1,65	1,75
Erde a . . . . .	1,65	1,65	3,3	5,85	5,75	6,25
Erde b . . . . .	1,6	1,65	1,6	1,6	1,6	1,85
Kontrolle . . . . .	1,55	1,55	1,55	1,55	1,6	1,65

## 3. Mit 0,5 Proz. Pepton versetzter, durch Tonkerzen filtrierter, unter luftdichtem Verschuß gehaltener Kuhharn bei 30° C.

	1	4	8	14	21	42
	Tage alt					
Gülle a . . . . .	1,55	1,6	1,6	1,7	2,15	6,2
Gülle b . . . . .	1,65	1,7	1,6	1,85	5,75	6,1
Gülle c . . . . .	1,6	1,65	1,9	5,55	5,8	6,15
Erde a . . . . .	1,8	1,8	1,85	1,95	1,85	1,9
Erde b . . . . .	1,6	1,65	1,65	1,7	1,65	2,0
Kontrolle . . . . .	1,55	1,6	1,6	1,7	1,65	1,8

## 4. 0,5-proz. Peptonwasser, unter luftdichtem Verschuß bei 30° C.

	4	8	14	21	42
	Tage alt				
Gülle a . . . . .	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Gülle b . . . . .	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Gülle c . . . . .	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Erde a . . . . .	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Erde b . . . . .	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Kontrolle . . . . .	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15

Beurteilen wir die Alkalität der für diese Kulturversuche verwendeten Harne nach den Zahlen der Kontrollen, so sehen wir, daß die alkalische Reaktion des durch Hitze sterilisierten Harnes etwa 4,8 Proz. Kristallsoda entspricht, diejenige des filtrierten Harnes etwa 3,7 Proz. Wir haben es also bei ersterem mit einer beinahe 10 mal stärkeren Alkaleszenz zu tun, wie bei den Versuchen mit Harnstoffbouillon. Dem Umstande der relativ niederen Alkalität ist es wohl zuzuschreiben, daß im filtrierten Harn bei 20° C die in den übrigen Harnkulturen gut arbeitenden Stämme „Gülle a“ und „Gülle b“ versagen, während die günstigere Temperatur von 30° C. das Hemmnis noch zu kompensieren vermag.

Weniger an eine bestimmte alkalische Reaktion gebunden erweisen sich die Stämme „Gülle c“ und „Erde b“, sie entwickeln gerade im filtrierten Harn bei 30° C etwelche Tätigkeit, verhalten sich hingegen im stärker alkalischen, durch Hitze sterilisierten Harne untätig.

Als der kräftigste Vergärer erweist sich „Erde a“. Bei diesem Organismus ist das quantitative Gärvermögen gleich groß wie bei „Gülle a“ und „Gülle b“, die Gärungsschnelligkeit aber noch etwas größer. Im filtrierten Harn bei 20° C ist die Tätigkeit dieses Stammes ungestört.

Bei der Herstellung der Harnkulturen mit Zusätzen wurde die Alkalität noch niedriger vorgefunden und nicht höher eingestellt. Sie entsprach durchschnittlich 2,4 Proz. Kristallsoda. Es sollte festgestellt werden, ob der Zusatz imstande sei, das Hemmnis zu überwinden. Es ergab sich folgender eigenartiger Befund:

Im Strohdekot- und Faecesdekotharn waren die Verhältnisse für „Gülle a“ und „Gülle b“ offenbar nicht besser geworden; denn diese verhielten sich refraktär. Im Gegensatze dazu funktionierte „Erde a“ immer noch ungestört. Gerade umgekehrt aber waren die Verhältnisse im Peptonharn: Hier gediehen trotz schwacher Alkalität „Gülle a“ und „Gülle b“ und außerdem „Gülle c“ gut, während „Erde a“ nichts leistete.

Wir haben bei diesen Kulturversuchen mit Harn nicht speziell eruiert, ob es sich ausschließlich um die Vergärung von Harnstoff handelt; denn bekanntlich gibt es auch Harnstoff vergärende Mikroorganismen, die gleichzeitig die Fähigkeit haben, Harnsäure und Hippursäure anzugreifen (Schellmann (21)). Nach den hier erhaltenen Titerzahlen (Maximum 7, 6—2, 45 = 5, 15 ccm n/10-Säure = ca. 1,6 Proz. Harnstoff) dürfte jedoch eine Vergärung dieser letzteren Körper nicht wesentlich in Betracht fallen.

#### Versuch vom 16. August bis 16. September 1912.

##### 1. Durch Tonkerzen filtrierter Kuhharn ohne luftdichten Verschuß bei 20° C.

	3	11	17	31
	Tage alt			
Erde Münsingen . . . . .	4,4	3,8	3,0	2,4
Gülle 3121 . . . . .	1,7	2,1	1,6	2,2
Parzelle 93 . . . . .	1,8	3,8	3,5	3,0
Kontrolle . . . . .	1,6	1,6	1,6	1,6

## 2. Mit Strohdokt versetzter, durch Tonkerzen filtrierter, ohne luftdichten Verschuß gehaltener Kuhharn bei 20° C.

	3	11	17	31
	Tage alt			
Erde Münsingen . . . . .	4,5	3,7	3,0	2,5
Gülle 3121 . . . . .	1,8	2,5	2,8	2,6
Parzelle 93 . . . . .	2,3	3,5	3,3	2,7
Kontrolle . . . . .	1,5	1,5	1,5	1,5

## 3. Mit Kuhfaecesdekot versetzter, durch Tonkerzen filtrierter, ohne luftdichten Verschuß gehaltener Kuhharn bei 20° C.

	3	11	17	31
	Tage alt			
Erde Münsingen . . . . .	4,2	3,8	2,9	2,6
Gülle 3121 . . . . .	1,6	2,2	1,9	2,2
Parzelle 93 . . . . .	1,8	3,2	3,3	2,8
Kontrolle . . . . .	1,5	1,5	1,5	1,5

## 4. Mit 0,5 Proz. Pepton versetzter, durch Tonkerzen filtrierter, ohne luftdichten Verschuß gehaltener Kuhharn bei 20° C.

	3	11	17	31
	Tage alt			
Erde Münsingen . . . . .	4,2	3,5	3,2	2,5
Gülle 3121 . . . . .	2,1	2,3	2,2	2,4
Parzelle 93 . . . . .	1,6	3,4	3,8	3,0
Kontrolle . . . . .	1,6	1,6	1,6	1,6

Bei dieser Serie besteht zwischen den Harnkulturen ohne Zusatz und denjenigen mit Zusatz kein Unterschied in der Reaktion. Sie entspricht überall ziemlich genau 2,3 Proz. Kristallsoda, ist also relativ niedrig. Trotzdem findet eine freudige Entwicklung sämtlicher drei Stämme statt. Jeder verhält sich in den vier Kulturflüssigkeiten anscheinend gleich. Die Zusätze waren also ohne deutlichen Einfluß. In Anbetracht der schwachen Alkalität und der dessen ungeachtet doch ganz guten Entwicklung der drei Mikroorganismen muß doch die Frage aufgeworfen werden, ob nicht noch andere Einflüsse als die Reaktion beim normalen Harne als Kulturmedium eine Rolle spielen.

Die Vergärungsversuche im Harn wurden nicht auf die Stämme „Gartenland I“, „Gartenland II“ und „Mist a“ ausgedehnt.

Stellen wir die Vergärungsergebnisse der Bouillon- und Harnkulturen einander gegenüber, so sehen wir, daß im allgemeinen die Eigentümlichkeiten jedes Stammes in allen diesen Kulturflüssigkeiten zum Ausdrucke kommen. Folgende Skala veranschaulicht ungefähr die Verhältnisse:

„Erde a“, „Erde Münsingen“	} sehr kräftige Vergärer
„Gartenland I“, „Gartenland II“, „Mist a“	
„Gülle a“, „Gülle b“, „Parzelle 93“	
„Gülle c“, „Gülle 3121“	
„Erde b“	kräftige „
	schwache „
	sehr schwacher „

Über die abweichenden Befunde verweisen wir auf das oben Ausgeführte.

**Zur Frage der Existenz- und Funktionsfähigkeit der Harnstoffvergärer bei gänzlichem Mangel an Luftsauerstoff.**

Wir kommen zum Kernpunkt unserer Untersuchungen. Es ist die Beantwortung der Frage: Werden beim Schependorfer Jauchebereitungsverfahren durch Schaffung anaërober Verhältnisse die Harnstoff spaltenden Pilze in ihrer Tätigkeit gehemmt und dadurch eine so weit gehende Konservierung des Jauchestickstoffes erreicht?

Da es sich um eine prinzipielle Feststellung handelt, wollen wir die Frage folgendermaßen formulieren:

1. Sind die Harnstoff hydratisierenden Organismen imstande, unter streng anaëroben Verhältnissen, d. h. bei gänzlichem Ausschluß des Luftsauerstoffes, zu wachsen?

2. Sollte dies der Fall sein, sind diese Kleinwesen auch imstande, unter diesen Bedingungen ihre spezifische Funktion der Harnstoffspaltung auszuüben?<sup>1)</sup>

Soweit uns die einschlägige Literatur erreichbar war, scheint es, als ob diese Fragen seit Einsetzen der bakteriologischen Ära bis heute fast einstimmig in verneinendem Sinne beantwortet worden seien. Allerdings finden wir zunächst eine aus dem Jahre 1884 stammende Angabe von L a d u r e a u (15), die der Anaërobie das Wort zu sprechen scheint, es lautet die betreffende Stelle folgendermaßen: „Il (le ferment) agit aussi facilement dans le vide barométrique que sous une pression normale, ou même sous une pression de 3 Atm. Il décompose l'urée aussi bien en présence de l'air que des gaz oxygène, azote, hydrogène, acide carbonique, protoxyde d'azote . . .“. Für unsern Standpunkt büßt aber diese bemerkenswerte Vernehmlassung dadurch an Wert ein als genauere Angaben betreffend die eingeschlagene Technik resp. ob überhaupt nach bakteriologischen Arbeitsprinzipien vorgegangen wurde, oder ob es sich um rein enzymologische Untersuchungen handelt, fehlen.

In L a f a r s Handbuch der technischen Mykologie (16) behandelt Miquel den Gegenstand im Kapitel „Die Vergärung des Harnstoffes, der Harnsäure und der Hippursäure“. „. . . Die Harnstoffbakterien scheinen alle aërob zu sein. Jedoch erfordern die sehr kräftigen unter ihnen, welche 10—20 gr Harnstoff (im Liter) verarbeiten, so geringe Mengen von freiem Sauerstoff, daß man früher hatte meinen können, sie zu den fakultativ Anaëroben zählen zu sollen. Wenn man aber dieses Gas so vollständig, als dies im Laboratorium möglich ist, aus den Nährböden entfernt und ferne hält, tritt die Spaltung des Harnstoffes nicht ein, auch nicht bei jenen Arten, deren Vermehrungskraft im Verhältnis sehr klein (kaum 1 Teil Zellen auf 5000—6000 Teile Harnstoff) ist . . .“.

In Übereinstimmung mit dieser Anschauung befindet sich S ö h n g e n (23). Auch hier seien des Autors eigene Worte zitiert: „. . . Für die Oxydation der Kohlenstoffquelle wird nur eine sehr kleine Menge atmosphärischen Sauerstoffes verbraucht, wie man aus sehr einfachen Versuchen mit Kulturen in Stöpselflaschen erschen kann. Nur der in den Kulturflüssigkeiten

<sup>1)</sup> Eine dritte Möglichkeit, das unbegrenzte Fortwirken des harnstoffhydratisierenden Enzyms, der Urease, bei Sauerstoffabwesenheit, verbunden mit Sistierung der Lebensäußerungen der Organismen selbst, ein Vorgang, dem für die Verhältnisse in Jauchegruben vielleicht eine gewisse Bedeutung zukommt, wurde bei diesen Studien keiner näheren Prüfung unterzogen.

gelöste Sauerstoff steht den Bakterien zur Verfügung und doch findet die Ureumspaltung fast in gleichem Maße statt, als wenn der Sauerstoff im Überflusse zutreten kann. Wird die Kulturflüssigkeit jedoch zuvor mittels Auskochen sauerstofffrei gemacht, so wird nach Impfung in eine gefüllte Stöpselflasche kein Ureum gespalten . . .“.

Miquel und Sö h n g e n sind also der Ansicht, daß die Harnstoffvergärer obligate Aërobier seien, wenn auch die zum Leben unerläßliche Menge atmosphärischen Sauerstoffes sehr gering sein kann. Damit würde ja das beim Schependorfer Verfahren zutage getretene Phänomen gut übereinstimmen: Zum Leben, jedenfalls zur Ammoniumkarbonatbildung aus Harnstoff wäre dort der Sauerstoffdruck in der aufgestauten, gegen außen hermetisch abgeschlossenen Jauche zu gering, zumal wohl durch anderweitige „fakultative“ und obligate Anaërobier bald für ein völliges Verschwinden auch der letzten Sauerstoffspuren gesorgt wird.

Wollte man die Versuchsorganismen also diesen, nach den nicht sehr ermutigenden Angaben der Autoren höchst ungünstigen Bedingungen der Anaërobie aussetzen, so schien es vor allem von Wichtigkeit, ihnen wenigstens ein möglichst zusagendes Kulturmilieu mit auf den Weg zu geben. Es wurde daher auf den Harn als solchen verzichtet und die Harnstoffbouillon gewählt als der an gut verbrennbaren Kohlenstoffquellen bedeutend reichere flüssige Nährboden. Hingegen sahen wir von einer speziellen Erhöhung der Alkaleszenz ab, um in dieser Beziehung mit unseren früheren Versuchen in Übereinstimmung zu bleiben. Die Nährmedien wiesen die frühere, geringe Alkalität auf.

Wir begannen die Versuche mit den 5 Stämmen „Gülle a“, „Gülle b“, „Gülle c“, „Erde a“ und „Erde b“. Nach vorangehendem Auskochen wurden mit jedem Stamm je 6 lproz. Harnstoffbouillons geimpft mit der Spitze des Platindrahtes oder kleiner Öse ab Harnstoffgelatinestrichkulturen. Je drei der Röhren verschlossen wir dann anaërob mittels des Pyrogallol-Laugeverschlusses.

J. Kürsteiner (12) sagt folgendes über die Technik dieses durch seine Einfachheit, Präzision und Billigkeit außerordentlich zweckmäßigen Anaërobenverfahrens: „. . . Der sterile, nicht entfettete, das Reagenzglas<sup>1)</sup> schließende Wattepfropf wird nach der Impfung des ausgekochten flüssigen Nährbodens abgeflammt, die verkohlte, aus dem Gläschen ragende Watte mittelst Schere abgeschnitten und nun der so behandelte, sterile Wattepfropf mittelst Pinzette ziemlich weit ins Gläschen hineingestoßen. Auf diesen sterilen Wattepfropf stoßen wir einen entfetteten, hygroskopischen Wattebausch, der nicht unbedingt steril zu sein braucht, da der unter ihm sich befindende sterile Wattepfropf einen vollständig genügenden sterilen Abschluß bietet. In den hygroskopischen Wattebausch gießen wir nun aus je einem Meßzylinderchen 1 ccm 20proz. Pyrogallussäure und 1 ccm 20proz. Kalilauge. Nachdem das geschehen ist, verschließen wir das Reagenzglas sofort mit einem gut passenden, vorher schnell an den Wandungen mit Wasser benetzten Kautschukpfropf . . .“.

Sämtliche Röhren wurden bei 30° C aufgestellt. Wir geben den Versuchsverlauf tabellarisch wieder:

<sup>1)</sup> Es kommen bei der Methode die gewöhnlichen Reagenzgläser in Anwendung, sie sollen jedoch recht starkwandig sein.

## 1. Mit Platinspitze geimpfte, aëro b e Kulturen.

	Nach				
	3	4	5	9	23
	Tagen				
Gülle a . . . . .	+ —	+ —	+ —	+ +	+ +
Gülle b . . . . .	+ —	+ —	+ —	+ —	+ —
Gülle c . . . . .	+ +	+ +	+ +	+ —	+ +
Erde a . . . . .	— —	+ —	+ —	+ —	+ —
Erde b . . . . .	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +

## 2. Mit Platinspitze geimpfte, a n a ë r o b e Kulturen.

	Nach				
	3	4	5	9	23
	Tagen				
Gülle a . . . . .	— —	— —	— —	— —	— —
Gülle b . . . . .	— —	— —	— —	— —	— ? — ?
Gülle c . . . . .	— —	— —	— —	— —	— —
Erde a . . . . .	+ —	+ +	+ +	+ +	+ +
Erde b . . . . .	— —	— —	— —	— —	— —

## 3. Mit kleiner Öse geimpfte, aëro b e Kulturen.

	Nach			
	1	2	6	20
	Tagen			
Gülle a . . . . .	+	+		
Gülle b . . . . .	+	+		
Gülle c . . . . .	+	+		
Erde a . . . . .	—	+		
Erde b . . . . .	+	+		

## 4. Mit kleiner Öse geimpfte, a n a ë r o b e Kulturen.

	Nach			
	1	2	6	20
	Tagen			
Gülle a . . . . .	—	—	—	— ?
Gülle b . . . . .	—	—	—	— ?
Gülle c . . . . .	—	—	—	—
Erde a . . . . .	+	+	+	+
Erde b . . . . .	—	—	—	—

+ = Wachstum, — = kein Wachstum.

Wir stehen also der bisher unbekannten, interessanten Tatsache gegenüber, daß ein harnstoffvergärender Organismus in vorher ausgekochter Harnstoffbouillon unter Kali-Pyrogallol-Verschuß zur besten Entwicklung gelangen kann.

Wie man sieht erfolgte das Wachstum des betreffenden Stammes „Erde a“ unter anaëroben Bedingungen sogar prompter als das der aëroben Kontrolle: Im einen Fall schon nach 3 Tagen, während die Kontrolle erst am

4. anging, im 2. Fall bereits nach 24 Stunden, im Gegensatz zur zweitägigen „Inkubationszeit“ der Kontrolle.

Was das Aussehen der anaëroben Bouillonkultur anlangt, so charakterisierte es sich durch starke Trübung der Bouillon mit alsbald beginnender Bodensatzbildung, durch Klarbleiben einer obersten, ca. 1½ cm hohen Zone, durch Ausbildung abwechselnd klarerer und trüberer Ringe am Übergang der obersten klaren Zone in diejenige der intensiven Trübung. Nach Verlauf einiger Tage erfolgte dann Klärung der ganzen Bouillonsäule durch Sedimentieren des Bakterienmaterials.

Nach Verlauf von 23 resp. 20 Tagen wurden die anaëroben Verschlüsse entfernt, (wobei auf sorgfältige Beseitigung der letzten Kalilaugenspuren geachtet wurde) und die Kulturen nach der oben angegebenen Methodik titriert:

Versuchsnummer	Aërob			Anaërob		
	1	1	3	2	2	4
Gülle a . . . . .	2,6	1,75	2,15	0,75	0,55	2,15
Gülle b . . . . .	2,05	0,55	1,9	0,65	0,75	1,75
Gülle c . . . . .	1,8	1,95	2,05	0,6	0,5	0,75
Erde a . . . . .	1,5	0,55	1,65	<b>3,7</b>	<b>4,3</b>	<b>4,55</b>
Erde b . . . . .	1,2	0,95	1,4	0,55	0,8	1,3
Kontrolle . . . . .	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Unser Stamm „Erde a“ büßt also unter anaëroben Bedingungen seine Gärfunktion nicht nur nicht ein, sondern entwickelt eine maximale Tätigkeit. Rechnen wir die höchste Zahl um unter Abzug des Wertes für die Kontrolle, so kommen wir zu 1,2proz. Harnstoff, also zu einem etwas zu großen Wert. Das legt die Vermutung nahe, daß es sich neben der Harnstoffhydratation um geringe Ammonabsplaltung vom Pepton handeln dürfte.

(Auffallend schwach ist im Gegensatz dazu die Aktivität von „Erde a“ in den aëroben Kulturen. Auch gegenüber den Resultaten der früheren Titrationsversuche mit 1 proz. Harnstoffbouillon zeigt sich eine ganz beträchtliche Abnahme des Gärvermögens: Dort in 24 Stunden bei 30° ca. 0,9 Proz. Harnstoff vergoren, hier nach 3 Wochen bei 30° nur ca. 0,35 Proz. Die früheren Titrierungen fanden statt vom 24. Januar bis 25. März 1912, die hier in Rede stehenden am 10. April 1912 (Impfung am 18. resp. 21. März). Wir müssen es dahingestellt sein lassen, die Frage zu entscheiden, ob diese Differenz auf die fortschreitende Degeneration von „Erde a“ zurückzuführen ist oder ob dabei gewisse inkonstante Eigenschaften der Nährflüssigkeiten eine Rolle spielen. In dieser Richtung wurden keine weiteren Untersuchungen vorgenommen. Immerhin gewinnt die erstgenannte Annahme an Wahrscheinlichkeit bei Berücksichtigung des Verhaltens des Bacillus gegenüber der 10 proz. Harnstoffkonzentration, bei der ja in jenem Zeitabschnitt (24. Januar bis 25. März 1912) bereits ein Versagen zu konstatieren war.

Erwähnenswert ist auch das Verhalten von „Gülle a“ und „Gülle b“ unter anaëroben Bedingungen. Nach 3 Wochen war die Bouillon hauchartig getrübt, bei „Gülle b“ fanden sich auch feinste flottierende Flöckchen; ferner war die Wand des Reagenzglases, soweit es mit der Bouillonsäule in Berührung stand, getrübt. Wir waren im Zweifel, ob diese geringen Erscheinungen als Wachstum zu deuten seien. Das durch Titrierung gewonnene Resultat darf aber wohl im positiven Sinne gedeutet werden. „Gülle a“ hätte in einem Fall ca. 0,5 Proz., „Gülle b“ 0,38 Proz. Harnstoff vergoren. Da wir im Besitze des bedeutend kräftigeren anaëroben wachsenden Stammes „Erde a“ waren, verfolgten wir das anaërobe Verhalten von „Gülle a“ und „Gülle b“ nicht weiter.)

Es mußte sich jetzt für uns darum handeln, unser Versuchsergebnis mit „Erde a“ noch besser zu fundieren. Wir machten uns zur Aufgabe, die Echtheit der anaëroben Phänomene bei diesem Stamm in möglichst

prägnanter, unzweideutiger Weise festzustellen. Es ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß dieses Ziel erreicht ist, wenn es gelingt, nachzuweisen, daß ein Mikroorganismus unter absolut anaëroben Bedingungen wiederholt weiter geimpft immer wieder befähigt ist, gut fortzuwachsen.

In seiner umfassenden Arbeit gibt J. Kürsteiner (13) ein Verfahren an, das uns in ausgezeichneter Weise gestattete, unsere Absichten zu verwirklichen, sein „mehrteiliges, anaërobes Kulturgefäß“. Wir erlauben uns, die Hauptzüge seiner Methodik, soweit sie für unsere Zwecke in Betracht kommt, hier kurz wiederzugeben. Das mehrteilige anaërobe Kulturgefäß besteht aus einer Anzahl hintereinander geschalteter, miteinander in ungefähr halber Höhe kommunizierender Kulturröhrchen. Die Verbindungsröhren sind so zwischen die einzelnen Eproutetten eingeschmolzen, daß, wenn wir uns durch die erste eine Horizontale gezogen denken, die vertikalen Abstände davon bei den folgenden Verbindungsstücken fortwährend etwas zunehmen, es sich also um ein saches, treppenartiges Ansteigen derselben handelt. Dieses kommunizierende Röhrensystem wird zum Gebrauch mit der Nährflüssigkeit gefüllt. Dabei kommt es darauf an, die Flüssigkeitsniveaux in den einzelnen Röhren in ganz besonderer, sofort näher zu erörternder Weise einzustellen. Das erste Röhrchen wird geimpft und dann unverzüglich auf sämtliche Röhrchen der Anaërobenverschluß montiert. Die Weiterimpfung nach eingetretenem Wachstum in das folgende Röhrchen wird durch vorsichtiges Neigen des Kulturgefäßes bewerkstelligt, ebenso wiederum die Impfung von dem zweiten in das dritte Röhrchen usw. durch die ganze Reihe. Aus diesem Grunde ist es unerläßlich, die Flüssigkeitsniveaux beim Beschicken des Systems mit Kulturflüssigkeit genau in solcher Weise abzustufen, daß eben immer gerade eine solche Einzelübertragung in fortschreitender, ununterbrochener Reihenfolge stattfinden kann. Für das lückenlose Verständnis des Apparates verweisen wir auf die Originalarbeit.

#### Züchtungsversuch mit „Erde a“ im mehrteiligen anaëroben Kulturgefäß nach Dr. J. Kürsteiner.

Es kommen 4 sechsteilige Kulturgefäße zur Verwendung. Sie werden vorerst mit aufgesetzten Wattestopfen leer sterilisiert. Als Nährlösungen benutzen wir 1proz. Harnstoffbouillon und -gelatine. Diese werden wie immer so hergestellt, daß die Bouillon resp. Gelatine sowohl, als auch die wässrige Harnstofflösung getrennt zur Sterilisation gelangen, um dann mit steriler Pipette in sterilem Kolben in entsprechendem Verhältnis gemischt zu werden. Endlich werden die Nährlösungen mit steriler Pipette auf die eben angegebene Weise in die Kulturgefäße abgefüllt. Es erfolgt jetzt eine fraktionierte Sterilisation der beschickten Gefäße. Zur Prüfung auf Keimfreiheit werden die Röhrensysteme schließlich noch während 3 Tagen bei 30° C aufgestellt.

Die Impfung der ersten Röhre jeden Systems erfolgte durch eine kleine Öse voll wenige Tage alten Kulturmateriales eines Striches auf 1proz. Harnstoffgelatine. Dann wurden sämtliche Gefäße sofort mit dem Pyrogallol-Lauge-Verschluß versehen.

Ein System mit	Bouillon	wird bei	30°	aufgestellt
„ „ „	Gelatine	„ „	30°	„
„ „ „	Bouillon	„ „	20°	„
„ „ „	Gelatine	„ „	20°	„



Bevor wir uns der Gelatine bedienten, erschien uns noch ein kleiner Vorversuch notwendig. Es könnte der Einwand erhoben werden, die Sauerstoffabsorption erfolge aus der Gelatine langsamer als aus der bei solchen Versuchen in der Regel verwendeten Bouillon infolge ihrer größeren Viskosität bei 30° C resp. ihres festen Aggregatzustandes bei 20° C. Wir versetzten daher Molkengelatine- und Peptonschottenröhrchen mit je 1 Tropfen (L ö f f l e r s) Methylenblau, sterilisierten im Dampftopf und schüttelten die Röhrchen sachte, bis wieder die ursprüngliche, durch das Sterilisieren verschwundene Grünfärbung (verursacht durch die Eigenfarbe des Nährmediums und den zugesetzten Farbstoff) zum Vorschein gekommen war. Das Methylenblau diente uns als Sauerstoffindikator.

Wir setzten folgende Proben an:

1	Röhrchen	Molkengelatine	mit	Anaërobenverschluß	bei 20° C.
1	"	Peptonschotte	"	"	20° C.
1	"	Molkengelatine	"	"	30° C.
1	"	Peptonschotte	"	"	30° C.
1	"	Molkengelatine	ohne	"	20° C.
1	"	Peptonschotte	"	"	20° C.
1	"	Molkengelatine	"	"	30° C.
1	"	Peptonschotte	"	"	30° C.

Es zeigte sich, daß die bei den anaëroben Röhrchen zu erwartende Entfärbung sowohl bei 20 als auch bei 30° C in der Gelatine nicht später auftrat als in der Peptonschotte. (In der bei 20° aufgestellten, also fest gebliebenen, aërob gehaltenen Gelatine, trat nach 2 Tagen in der unteren Hälfte ebenfalls Entfärbung ein, während die obere Hälfte die blaugrüne Farbe beibehielt.)

Sobald in den geimpften ersten Röhrchen der anaëroben Kulturgefäße kräftiges Wachstum eingetreten war, was bei dreien nach 24 Stunden, bei einem (Harnstoffgelatine bei 30°) nach 48 Stunden der Fall war, wurde ohne Verzug mit den Weiterimpfungen begonnen. J. K ü r s t e i n e r (14) hat mit Benützung eines äußerst empfindlichen Sauerstoffreagens, der Leucht-bakterien, nachgewiesen, daß bei 10° C erst zwischen 72 und 96 Stunden eine vollständige Absorption des Sauerstoffes durch den Pyrogallol-Lauge-Verschluß aus der keimfreien Bouillon stattfindet. Wenn wir also nach 24 oder 48 Stunden mit den Weiterimpfungen begannen, so waren zu dieser Zeit vielleicht noch nicht die letzten Sauerstoffspuren aus den ungeimpften Nährflüssigkeiten verschwunden. Wir geben hier an, bis zu welcher Röhre des Kulturgefäßes unsere Überimpfungen gelangt waren nach Verlauf von 4 Tagen vom Aufsetzen der anaëroben Verschlüsse an gerechnet. Die 4 Tage entsprechen nach dem Obigen einer Zeitspanne, innerhalb welcher ganz sicher eine komplette Sauerstoffabsorption stattgefunden haben muß:

Bouillon	30° C.	4. Röhre
Gelatine	30° C.	2. Röhre
Bouillon	20° C.	3. Röhre
Gelatine	20° C.	4. Röhre

Die von diesem Zeitpunkt an erfolgenden Weiterimpfungen finden also in absolut sauerstofffreie Nährflüssigkeit statt; tritt jetzt immer noch Wachstum ein, so ist der Beweis der echten Anaërobiose geliefert. Die Anzahl solcher streng beweisender Weiterimpfungen beläuft sich, da die verwendeten Kulturgefäße aus 6 Röhren bestanden, auf:

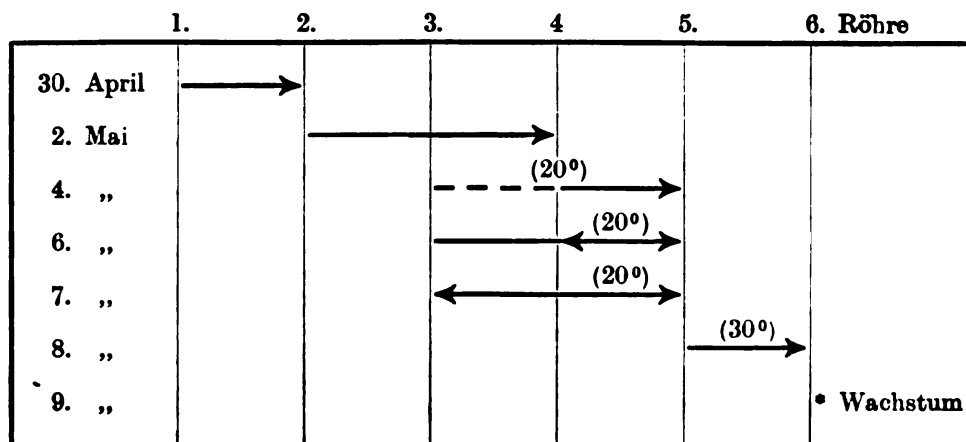
2	beim System	Bouillon	30° C.
4	„	„	Gelatine 30° C.
3	„	„	Bouillon 20° C.
2	„	„	Gelatine 20° C.

Der Grund, warum wir die Weiterimpfung sofort nach eingetretenem Wachstum fortsetzten und nicht warteten bis die 4 Tage verstrichen waren, läßt sich folgendermaßen präzisieren: Wir mußten jedenfalls dafür Sorge tragen, daß unser Stamm immer in möglichst lebenskräftigem Zustande zur Weiterimpfung kam. Ein längeres Verbleiben in einer durch Ammonkarbonat stärker alkalisch reagierenden Nährflüssigkeit hätte aber in dieser Beziehung schaden können. Es kam übrigens hie und da sowieso zu einem längeren Verweilen in, wie anzunehmen ist, bereits alkalischem Nährmedium dadurch, daß eine Impfung versagte. Wir waren dann genötigt durch vorsichtiges Rückwärtsneigen des Kulturgefäßes die Niveaudifferenz der betreffenden zwei Röhrchen wieder auszugleichen, um dann die Materialübertragung zum 2. Male zu vollziehen.

Es bekundet sich vielleicht in diesem Umstande doch ein gewisses Hemmnis, das zu überwinden es bei den Neuimpfungen für unseren Mikroorganismus galt. Worin es besteht, ist nicht leicht zu eruieren. Der Umstand mag auch dazu beigetragen haben, daß immer große Neigung zur Sedimentierung bestand, während die oberste Flüssigkeitszone gänzlich klar blieb. Wir waren daher gezwungen, vor dem Überimpfen zu mischen. Durch Schütteln allein ließ sich das nicht bewerkstelligen. Der Inhalt der einzelnen Kulturgläschen hätte sich dabei, durch die Kommunikationsröhrchen fließend, vermischt. Wir stellten das Kultursystem mit seiner unteren Hälfte in ein Wasserbad von 37° während ca. 5 Minuten. Durch die entstehenden Flüssigkeitsströmungen erfolgte eine ziemlich gute Durchmischung der Kulturen, manchmal mußte man durch gelindes Schütteln die Mischung noch vervollständigen. Auf diese Weise brachten wir Bakterienmaterial bis zur Höhe des Kulturflüssigkeitsniveau. Immerhin blieb oft die größte Kulturmasse doch am Boden zusammengesintert liegen, die Impfungen mögen daher manchmal recht spärlich ausgefallen sein.

Aus diesen Erörterungen erhellt, daß es uns nicht immer möglich war, die Überimpfungen von Röhre zu Röhre in fortlaufender Reihenfolge durchzuführen. Es sei im Folgenden der Überimpfungsmodus, den wir bei jedem der 4 Kulturgefäße einzuschlagen gezwungen waren, graphisch dargestellt.

**Harnstoffbouillon bei 30° C. 1. Röhre geimpft am 29. April 1912.**



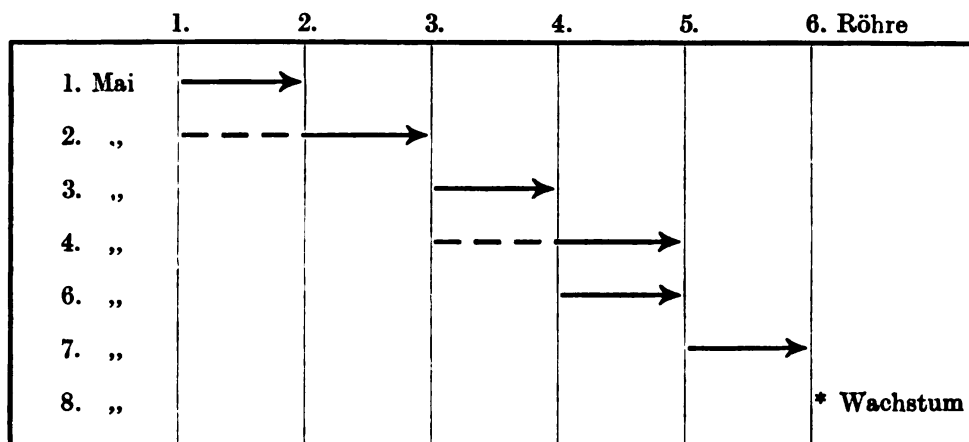
Harnstoffgelatine bei 30° C. 1. Röhre geimpft am 30. April 1912.

	1.	2.	3.	4.	5.	6. Röhre
2. Mai	→					
3. „	→					
4. „		→				
6. „			→			
7. „	- - -	- - -	→			
8. „				→		
9. „				→		
10. „			→	→		
11. „					→	
13. „						* Wachstum

Harnstoffbouillon bei 20° C. 1. Röhre geimpft am 30. April 1912.

	1.	2.	3.	4.	5.	6. Röhre
1. Mai	→					
2. „		→				
3. „	← →	← →				
4. „	- - -	← →	← →			
6. „		→				
7. „			→			
9. „			← →			
10. „				→		
13. „				← →		
14. „				- - -	→	
15. „					→	
17. „						* Wachstum

## Harnstoffgelatine bei 20° C. 1. Röhre geimpft am 30. April 1912.



Die durchbrochenen Linien bedeuten, daß von dem einen zum andern der betreffenden Kulturröhrchen geringste Mengen von Bouillon resp. Gelatine überflossen. Die nach rechts gerichteten Pfeile symbolisieren die Weiterimpfungen, die nach links gerichteten das Rückwärtsfließenlassen der Kulturflüssigkeit zur Wiederholung einer erfolglosen Impfung.

Die bei 20° C aufgestellte Harnstoffgelatine wird zur Verflüssigung jeweilen vor der Weiterimpfung während 2 Stunden zu 30° C gestellt.

Damit ist wohl der strikte Beweis geleistet, daß der Harnstoffvergärer „Erde a“ im Stande ist, bei gänzlichem Ausschluß von Luftsauerstoff zu wachsen. Die erste der am Beginn dieses Abschnittes gestellten Fragen ist also erledigt. Es mußte jetzt noch der Nachweis erbracht werden, daß auch unter diesen Bedingungen der Harnstoff in charakteristischer Weise angegriffen wird. Wir öffneten daher nach Verlauf einiger Tage, seitdem in der 6. Röhre Wachstum eingetreten war, die Kultursysteme zwecks Titrierung und mikroskopischer Kontrolle der Kulturflüssigkeit und kamen zu folgenden Resultaten:

## Harnstoffbouillon bei 30° C.

Die anaeroben Verschlüsse wurden 9 Tage nach eingetretenem Wachstum in der sechsten Röhre entfernt. Sämtliche 6 Röhrchen zeigen ungefähr einen gleich großen Bodensatz, eine klare Bouillon; in der Kuppengegend vereinzelte größere Kristalle.

Hängender Tropfen aus der 6. Röhre: Der Mikroorganismus teils in Form von Fäden und Ketten mit geknickter Axe, teils als längeres oder kürzeres Stäbchen in die Erscheinung tretend, unbeweglich. Kristalle.

Eine Weiterimpfung auf 1proz. Harnstoffgelatine, aerob und anaerob, blieb erfolglos.

Titrierung der 1., 3. und 6. Röhre:

1. Röhre	2,7
3. Röhre	3,0
6. Röhre	3,4
Kontrolle (ungeimpft)	0,45

**Harnstoffgelatine bei 30° C.**

Die anaëroben Verschlüsse wurden 10 Tage nach eingetretenem Wachstum in der sechsten Röhre entfernt. Sämtliche 6 Röhren zeigen eine klare Gelatinesäule und einen reichlichen Bodensatz. Von bloßem Auge eben erkennbare Kristalle haften, ziemlich dicht stehend, an der Glaswand. In den ersten 3 Röhren sind auch größere wandständige Kristalle zu beobachten.

Hängender Tropfen aus der 6. Röhre: Der Mikroorganismus bildet ein dichtes Netz von Fäden, die granuliert erscheinen. Unbeweglich. Kristalle von Sanduhrform in großer Zahl.

Eine Weiterimpfung auf 1proz. Harnstoffgelatine, aërob und anaërob, blieb erfolglos.

Titrierung der 1., 3. und 6. Röhre:

1. Röhre	3,2
3. Röhre	3,2
6. Röhre	3,85
Kontrolle (ungeimpft)	0,7

**Harnstoffbouillon bei 20° C.**

Die anaëroben Verschlüsse wurden 7 Tage nach eingetretenem Wachstum in der sechsten Röhre entfernt. Alle 6 Röhren haben klare Bouillon mit Bodensatz und einer verschieden großen Anzahl an der Glaswand adhärenter, ziemlich großer Kristalle.

Hängender Tropfen aus der 6. Röhre: Vorwiegend kürzere Stäbchen, auch kürzere Ketten. Keine Kristalle. Der Mikroorganismus ist unbeweglich.

Eine Weiterimpfung auf 1proz. Harnstoffgelatine aërob ergibt kräftiges Wachstum.

Titrierung der 1., 3. und 6. Röhre:

1. Röhre	2,9
3. Röhre	3,0
6. Röhre	3,75
Kontrolle (ungeimpft)	0,45

**Harnstoffgelatine bei 20° C.**

Die anaëroben Verschlüsse wurden 10 Tage nach eingetretenem Wachstum in der 6. Röhre entfernt. Alle sechs Röhren weisen ziemlich dicht stehende Kolonien mit diffuser Begrenzung auf. Die Gelatine ist durchsetzt von feinsten, dicht stehenden Kristallen, auch größere Kristallbildungen kommen vor.

Hängender Tropfen aus der 6. Röhre (die Gelatine wurde zunächst im Wasserbad von 37° verflüssigt): Der Mikroorganismus erscheint in Fadenform mit Granula und als längeres unbewegliches Stäbchen. Die Kristalle haben Hantel-, Keulen-, Kleeblatt-, Wetzsteinform.

Es wird weitergeimpft auf 1proz. Harnstoffgelatine, aërob. Resultat: kräftiges Wachstum.

Titrierung der 1., 3. und 6. Röhre:

1. Röhre	3,3
3. Röhre	3,55
6. Röhre	3,65
Kontrolle (ungeimpft)	0,7

Rechnet man diese Titerwerte unter Berücksichtigung der Kontrollen um, so kommt man zu folgenden Durchschnittszahlen für den umgesetzten Harnstoff:

1. Harnstoffbouillon bei 30° C. . . . .	0,77 %
2. Harnstoffgelatine bei 30° C. . . . .	0,81 %
3. Harnstoffbouillon bei 20° C. . . . .	0,83 %
4. Harnstoffgelatine bei 20° C. . . . .	0,84 %

Es wird dies so ziemlich der gesamten, effektiv in der Kulturflüssigkeit enthaltenen Menge Harnstoff entsprechen; es ist ja immer in Betracht zu ziehen, daß beim Sterilisieren kleine Mengen desselben durch Umsetzung verloren gehen.

Wir dürfen also auch die Frage nach der spezifischen harnstoffspaltenden Funktion unter streng anaëroben Bedingungen als im positiven Sinne erledigt betrachten.

Es könnte vielleicht noch der Einwand erhoben werden, unsere Titerzahlen täuschten ein Wachstum bloß vor gemäß folgender Überlegung: In der ersten Kulturröhre findet noch kräftiges Wachstum statt mit Hilfe des dort verbliebenen Restsauerstoffes, der ja vom Anaërobenverschluß aus keimfreier Kulturbouillon bei 10° erst nach 4 Tagen bis auf die letzten Spuren entfernt ist. Die Harnstoffvergärer benötigen zur vollen Entfaltung ihrer Funktion nachgewiesenermaßen nur auffallend wenig Luftsauerstoff. Das Gleiche mag auch noch in der zweiten und eventuell dritten Röhre in abgeschwächtem Grade der Fall sein. Dann sistiert aber das Wachstum bei den Weiterimpfungen. Hingegen entwickelt sich jetzt aus den angegangenen ersten Kulturen Ammoniak. Dieses verdunstet innerhalb den Raum des Kulturgefäßes und wird durch die noch sterile Bouillon in den letzten Röhren absorbiert. Dadurch kommt dort schließlich die gefundene Alkalität zustande.

Folgende Argumente entkräften aber diesen Einwand: Wir konnten uns immer überzeugen, daß auch in den letzten Röhren die Trübung durch Wachstum gleich intensiv war, wie in den ersten. Auch durch die Kontrolle im hängenden Tropfen fanden wir die Tatsache des Vorhandenseins eines reichlichen Bakterienmaterials bestätigt. Wäre in den letzten Röhren kein Wachstum mehr eingetreten, so hätte es sich bei einem Befund von Mikroorganismen nur um durch die Überimpfungen passiv dorthin transportierte Individuen handeln können. Diese hätten aber in Anbetracht der beim wiederholten Überimpfungsakt stattfindenden hochgradigen Verdünnung niemals in so reichlicher Zahl vorhanden sein können. Aber auch ganz abgesehen von diesen Erwägungen muß der Befund der verhältnismäßig hohen Vergärungswerte je der 1., 3. und 6. Röhre zusammengehalten mit der Tatsache, daß jedesmal die letzte (6.) Röhre die höchste Alkalität aufwies, jene supponierte Möglichkeit als ausgeschlossen erscheinen lassen.

Nachdem einmal dieser Befund gesichert war, mußte es weiter von Interesse sein, in der Gruppe der Harnstoffvergärer noch etwas weiter Umschau zu halten nach dieser wichtigen Eigenschaft. Wir hatten bisher 5 Stämme daraufhin untersucht mit dem überraschend günstigen Ergebnis, in dieser kleinen Schar einen streng anaërob wachsenden Stamm zu finden. Würde wohl eine umfangreichere Statistik die große Zahl von 20 Proz. bestätigen?

Es wurden daher 10 neue Stämme isoliert, in 1 Proz., ausgekochte Harnstoffbouillon geimpft und sofort der Anaërobenverschluß aufgesetzt. Von diesen 10 Stämmen ließen sich drei Arten oder Varietäten ausscheiden: „Erde Münsingen“, „Gülle 3121“ und „Parzelle 93“. Von den 10 anaëroben Harnstoffbouillonkulturen ist eine einzige angegangen: „Erde Münsingen“. Es schien also auf drei weitere neue Stämme schon wieder ein anaërober zu kommen.

Es sollte sich aber gerade in diesem Falle zeigen, daß erst die wiederholte Überimpfung unter streng anaëroben Verhältnissen ein Kriterium für wirkliche Anaërobie abgibt. — Wir beabsichtigten also, „Erde Münsingen“ durch das mehrteilige anaërobe System nach J. Kürsteiner zu schicken unter Einhaltung der oben beschriebenen Technik. Es wurde

diesmal nur 1 proz. Harnstoffbouillon bei 20 und 30° C angewandt. Das erste Röhrchen des zu 20° C kommenden Gefäßes wurde mit zwei Tropfen einer 24 Stunden alten, 1 proz. Harnstoffbouillonkultur geimpft, das erste Röhrchen des zu 30° C kommenden Systems mit einer mittelgroßen Öse der gleichen Kultur.

Es zeigte sich folgendes eigenartige Phänomen: Zu wiederholten Malen glückte es, nach Aufsetzen des Pyrogallol-Laugeverschlusses in der zunächst geimpften Röhre gutes Wachstum zu erzielen. Dann wurde anaërob weitergeimpft; es trat in der folgenden Röhre noch kümmerliche Vermehrung ein, bei einer weiteren Impfung aber sistierte jedes Wachstum.

Im folgenden geben wir den Impfungsmodus graphisch wieder, den wir unter wiederholtem Entfernen und Wiederaufmontieren der anaëroben Verschlüsse einzuschlagen gezwungen waren:

### Züchtungsversuch mit „Erde Münsingen“ im mehrteiligen anaëroben Kulturgefäß.

- ↑ = anaërobe Verschlüsse entfernt  
 ↓ = anaërobe Verschlüsse wieder aufgesetzt  
 Ø = kein Wachstum  
 + = zartes Wachstum  
 ++ = kräftiges Wachstum  
 ⊙ = Impfung.

Harnstoffbouillon bei 30° C. 1. Röhre geimpft am 28. August 1912.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.
29. August	+ ?					
31. „	? ↑ ⊙ ↓					
2. Septemb.	Ø ↑					
3. „	++ ↓ (aërob!)	---	---			
4. „	---	---	---	+		
6. „		Zurückgehen der Trübung	---			
9. „				Ø ↑		
11. „				++		
13. „				---	↓	
16. „				---	+	---
17. „						Ø
18. „						Ø
23. „						Ø ↑
25. „						Ø
27. „						++

Harnstoffbouillon bei 20° C. 1. Röhre geimpft am 28. August 1912.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.
29. August	++ →					
31. „		+				
2. Septemb.		+ ↑				
3. „		+				
4. „	-- → ++ ↓	→				
6. „			+ →			
9. „				Ø ↑		
11. „			++			
12. „			→ ↓	→		
13. „				++		
16. „				++		
17. „				→	→	
18. „						Ø
23. „						Ø ↑
25. „						Ø
27. „						++

Hängender Tropfen je aus der 6. Röhre: Bewegliche Stäbchen, einzeln und in Ketten, in Länge und Breite etwas variierend, Sporen. Jeweilige Weiterimpfung aus der 6. Röhre auf 1proz. Harnstoffgelatine ergibt kräftiges Wachstum.

Es gelang also nicht, den Mikroorganismus auf anaëroben Wege durch das System zu schicken, wir waren gezwungen, die anaëroben Verschlüsse mehrere Male zu entfernen, jedesmal mit dem Ergebnis, daß alsbald ein freudiges Wachstum einsetzte. (Dabei erfolgte auch in den schon früher entwickelten Kulturen der ersten Glieder des Röhrensystems ein neuer Wachstumsschub.)

Wir möchten dieses Verhalten von „Erde Münsingen“ als Pseudo-Anaërobiose bezeichnen und halten dafür, daß dieser Stamm mit den streng aëroben Organismen rangiert. Als echter Harnstoffvergärer hat er aber die Eigenschaft, mit sehr geringen Mengen von Luftsauerstoff vollkommen auszukommen, ja mit einer Menge, die noch unter dem Durchschnittsminimum liegen muß; denn sonst wären bei der anfänglichen Prüfung der 10 Stämme unter anaëroben Verschuß auch die übrigen 9 gewachsen. Bald aber ist nun unter den Verhältnissen, wie sie im anaëroben System herrschen, auch dieses Minimum so weit zurückgegangen, daß eine vollständige Wachstumshemmung die Folge sein mußte.

Um uns über die Verbreitung der Fähigkeit, ohne Luftsauerstoff wachsen zu können, noch etwas zu orientieren, beabsichtigten wir schließlich, noch einmal eine größere Anzahl von Harnstoffvergärern nach dem Prinzip der Anreicherungskultur zu gewinnen, mittels Platten zu isolieren, als Strich



auf 1 proz. Harnstoffgelatine weiterzuzüchten und dann vor jeder weiteren Prüfung sofort in ausgekochte 1 proz. Harnstoffbouillon unter Pyrogallol-Lauge-Verschuß zu bringen. Trat dort kein Wachstum ein, so schied der betreffende Stamm für unsere Zwecke aus. Die gewachsenen Kulturen hingegen sollten weiter im anaëroben, mehrkammerigen System geprüft und bei positivem Verhalten außerdem auf ihre übrigen Eigenschaften wie früher eingehend untersucht werden.

Wir gewannen so 57 Arten oder Varietäten aus verschiedenen Erde-, Gülle-, Dünger- und Mistproben. Aber nur 3 Stämme verhielten sich als echte Anaërobier, die auch imstande waren, die Probe des anaëroben, mehrgliedrigen Systems zu bestehen: „Gartenland I“, „Gartenland II“ und „Mist a“. Ein Typus wie „Erde Münsingen“ beegnete uns übrigens nicht mehr.

Für die anaëroben Systeme benutzten wir wiederum 1 proz. Harnstoffbouillon. Die erste Röhre wurde mit je einer kleinen Öse von einer jungen Harnstoffgelatinestrichkultur geimpft am 31. Dezember 1912 Aufstellung bei 30°. Die erste Überimpfung (in die 2. Röhre) erfolgte am 3. Januar 1913, also zu einer Zeit, in der voraussichtlich auch schon gänzliche Sauerstoffabsorption aus der noch ungeimpften Bouillon stattgefunden hatte. Die 5. und 6. Röhre dienten dieses Mal als Kontrollen. Die betreffenden Stellen aus dem Versuchsprotokoll seien hier noch angeführt:

Züchtungsversuch mit „Gartenland I“, „Gartenland II“ und „Mist a“ im mehrteiligen anaëroben Kulturgefäß.

„Gartenland I“.

Impfung der 1. Röhre am 31. Dezember 1912

„	„	2.	„	„	3. Januar	1913
„	„	3.	„	„	7. „	1913
„	„	4.	„	„	9. „	1913.

5. und 6. Röhre ungeimpft. Anaërobe Verschlüsse entfernt am 11. Januar 1913.

Titrierungsergebnisse.

1. Röhre	2,95 (11 Tage alt)
2. „	3,55 ( 8 „ „ )
3. „	3,7 ( 4 „ „ )
4. „	3,6 ( 2 „ „ )
5. „ (Kontrolle)	0,7
6. „	0,6

Morphologisch-kulturelle Angaben:

1. Röhre:	Schwach diffuse Trübung, Bodensatz, Kristalle; gut bewegliche Stäbchen
2. „ :	„ „ „ „ „ „
3. „ :	„ „ „ „ „ „
4. „ :	„ „ „ „ „ „ gut bewegliche Stäbchen

„Gartenland II“ (doppelt ausgeführt).

Impfung der 1. Röhre am 31. Dezember 1912

„	„	2.	„	„	3. Januar	1913
„	„	3.	„	„	6. resp. 9. Januar	1913
„	„	4.	„	„	9. „ 11. „	1913.

5. und 6. Röhre ungeimpft. Anaërobe Verschlüsse entfernt am 14. Januar 1913.

Titrierungsergebnisse.

1. Röhre	2,5 resp. 2,65 (14 Tage alt)
2. „	3,2 „ 3,05 (11 „ „ )
3. „	3,2 „ 3,3 (8 resp. 5 Tage alt)
4. „	3,85 „ 2,8 (5 „ 3 „ „ )
5. „ (Kontrolle)	1,0 „ 0,8
6. „	0,85 „ 0,8

**Morphologisch-kulturelle Angaben:**

1. Röhre: Schwach diffuse Trübung, Bodensatz, Kristalle; unbewegliche Stäbchen
2. " : " " " " "
3. " : " " " " "
4. " : " " " " " gut bewegliche Stäbchen.

**„Mist a“.**

Impfung der 1. Röhre am 31. Dezember 1912

" " 2. " " 3. Januar 1913

" " 3. " " 4. " 1913

" " 4. " " 7. " 1913.

5. und 6. Röhre ungeimpft. Anaërobe Verschlüsse entfernt am 11. Januar 1913.

**Titrierungsergebnisse.**

1. Röhre 2,9 (11 Tage alt)

2. " 3,4 ( 8 " " )

3. " 3,65 ( 7 " " )

4. " 3,6 ( 4 " " )

5. " (Kontrolle) 0,9

6. " " 0,8

**Morphologisch-kulturelle Angaben.**

1. Röhre: Ziemlich starke Trübung, Bodensatz, Kristalle; gut bewegliche Stäbchen  
u. unbewegliche Fäden

2. " : " " " " "

3. " : " " " " "

4. " : " " " " " gut bewegliche Stäbchen.

Im ganzen sind also 72 Stämme von Harnstoff hydratierenden Mikroorganismen auf ihr anaërobes Verhalten untersucht worden. 4 derselben, d. h. 5,6 Proz., besaßen die Fähigkeit, bei gänzlichem Ausschluß von Sauerstoff zu wachsen.

Wir müssen auf Grund unserer Versuchsergebnisse entschieden den Standpunkt vertreten, daß es beim **Schependorfer** Jauchebereitungsverfahren nicht die Unterdrückung der Harnstoffvergärer ist, die die hervorragend günstigen Ergebnisse in puncto Konservierung des Jauchestickstoffes bedingt, sondern die wirksame Absperrung des in der Jauche gebildeten Ammoniaks.

**Zusammenfassung.**

1. Die neueren Bestrebungen auf dem Gebiete der Verhütung von Stickstoffverlusten im Stall, wobei als in erster Linie wirksam ein Aufsammeln des Harnes der Nutztiere in vor Luftzutritt geschützten Behältern erachtet wird (**Schependorfer** Jauchebereitungsverfahren, System **Ortmann**), ließen eine erneute Prüfung der Frage, welchen Einfluß der freie Sauerstoff auf die Harnstoffgärung hat, wünschenswert erscheinen.

2. Der bisherige Stand unserer Kenntnisse, wie er durch die Literatur vermittelt wird, läßt sich dahin zusammenfassen, daß die Bakterien der Harnstoffgärung zwar luft- bzw. sauerstoffbedürftig sind, daß aber viele von ihnen anscheinend nur geringe Mengen dieses Elementes zu ihrer Entwicklung notwendig haben.

3. Zum Zwecke des Studiums der berührten Frage wurde unter Verwendung von Anreicherungskulturen in 10proz. Harnstoffbouillon eine größere Zahl von harnstoffzerlegenden Bakterien aus verschiedenen Erde-, Gülle- und Düngerproben isoliert; davon wurden — im Laufe der Arbeit von etwas verschiedenen Gesichtspunkten ausgehend — 11 Stämme als Versuchsorganismen reserviert.

4. Eine Identifizierung der gewonnenen Mikroorganismen mit den bereits beschriebenen Arten gelang nur unvollständig; es ist das einerseits auf das labile Verhalten dieser Spaltpilze, andererseits darauf zurückzuführen, daß erst eine beschränkte Zahl von Vertretern dieser Gruppe eingehender beschrieben ist.

Ein Paradigma für das schwankende Verhalten der Harnstoffvergärer ist der Stamm „**Erde a**“. Dieser Organismus verlor im Laufe weniger Monate sowohl sein Sporenbildungsvermögen als auch die Fähigkeit, den Harnstoff in 10proz. Konzentration zu spalten.

5. Vorgängig der Prüfung auf anaërobes Wachstum fand die Bestimmung der harnstoffspaltenden Funktion bei ungehindertem Luftzutritt statt. Zu diesem Behuf kam einmal 1- und 10proz. Harnstofffleischextraktpeptonbouillon, sodann steriler Kuhharn allein und mit einigen Zusätzen in Anwendung.

1proz. Harnstoffbouillon erwies sich als ein vortrefflich geeigneter Nährboden: fast ausnahmslos wurde sämtlicher Harnstoff vergoren.

Bei der 10proz. Harnstoffbouillon machten sich hinsichtlich Spaltungsvermögen deutlichere individuelle Unterschiede geltend.

Als weniger geeigneter Nährboden erwies sich der Kuhharn insofern, als hier öfters niedrigere Titerwerte resultierten als bei der, hinsichtlich Harnstoffkonzentration ungefähr in Parallele zu setzenden, 1proz. Bouillon.

6. Die Herstellung von Kulturen unserer Bakterien im sauerstofffreien Raume wurde mittelst Absorption des Sauerstoffes durch ein Gemisch von Kalihydrat und Pyrogallol bewirkt. Eine auf Anwendung dieses Prinzipes beruhende, von **J. Kürsteiner** angegebene Versuchsanordnung gestattet, nicht nur von der einzelnen Kultur den Sauerstoff fernzuhalten, sondern auch Überimpfungen von einer Kultur auf sauerstofffreien Nährboden im sauerstofffreien Raum vorzunehmen. Die Prüfung der Versuchsorganismen führte nun zu dem Ergebnis, daß 68 von ihnen bei Abwesenheit des Luftsauerstoffes nicht gedeihen, während 4, d. h. 5,6 Proz. unter genau denselben Verhältnissen kräftig wachsen und Harnstoff vergären.

7. Als obligater Aërobier mit pseudoanaëroben Verhalten ist der Stamm „**Erde Münsingen**“ zu beurteilen, der wohl unter dem anaëroben Verschluß zum Wachsen kam mit Hilfe einer Spur dort verbliebenen freien Restsauerstoffes,

hingegen bei weiteren Überimpfungen im sauerstofffreien Raum jede weitere Vermehrung einstellte.

8. Die Frage nach der Bedeutung des Luftsauerstoffes für die Harnstoffgärung wäre also dahin zu beantworten, daß es sowohl Harnstoffbakterien gibt, welche bezüglich ihrer Entwicklung auf den Genuß freien Sauerstoffes angewiesen sind als auch solche, welche dieses Element im ungebundenen Zustande entbehren können.

9. Da nicht anzunehmen ist, daß Harnstoffbakterien, welche unter völlig anaëroben Bedingungen die Harnstoffgärung durchführen können, selten vorkommen, so liegt kein Grund dafür vor, daß in vor Luftzutritt geschützten Behältern, wie sie neuerdings empfohlen werden, die Vergärung des wichtigsten, stickstoffhaltigen Harnbestandteils, des Harnstoffes, nicht ebenso vollständig verlaufen könnte, wie bei ungehindertem Luftzutritt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. R. Burri, Vorstand der schweizerischen milchwirtschaftlichen und bakteriologischen Anstalt Bern-Liebefeld, auch an dieser Stelle für die Anregung zu dieser Arbeit sowie das ihr stets erwiesene wohlwollende Interesse meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

#### Literaturverzeichnis.

1. Beijerinck, M. W., Anhäufungsversuche mit Ureumbakterien. Ureumspaltung durch Urease und durch Katabolismus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901. p. 41.)
2. l. c. p. 40.
3. l. c. p. 45.
4. l. c. p. 44.
5. l. c. p. 51.
6. l. c. p. 49.
7. l. c. p. 38.
8. Böhme, A., Die Anwendung der Ehrlich'schen Indolreaktion für bakteriologische Zwecke. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906. p. 129.)
9. Burri, R., Herfeldt, L., u. Stutzer, A., Bakteriologisch-chemische Forschungen über die Ursachen der Stickstoffverluste in faulenden organischen Stoffen, insbesondere im Stallmist und in der Jauche. (Journ. f. Landwirtsch. Jahrg. 42. 1894. p. 352 ff.)
10. Heim, L., Lehrbuch der Bakteriologie. 4. Aufl. 1911. p. 82.
11. Heinrich, Jutrzenka-Morgenstern, Wolbring, Gschwendner und König, Weitere Beiträge zu der Konservierungsfrage des Stallmistes (der Jauche). (Landw. Ann. d. mecklenburg. patriot. Ver. 1910. No. 11.)
12. Kürsteiner, J., Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien, sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. 1907. p. 23 ff.)
13. l. c. p. 207 ff.
14. l. c. p. 204.
15. Laddureau, Sur le ferment ammoniacal. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. 99. 1884. p. 877—878.)
16. Lafar, F., Handbuch der technischen Mykologie. Bd. 3. 1904—1906.
17. Löhnis, F., Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 14. 1905. p. 718. 721.)
18. l. c. p. 719.

19. L ö h n i s, F. u. K u n t z e, W., Beiträge zur Kenntnis der Mikroflora des Stalldüngers. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 20. 1908. p. 684, 686.)
20. l. c. p. 684.
21. S c h e l l m a n n, Über hippursäurevergärende Bakterien. [Diss. phil.] Göttingen 1902. (Zit. L ö h n i s, Handb. d. landw. Bakteriologie. 1910. p. 462.)
22. S ö h n g e n, N. L., Ureumspaltung bei Nichtvorhandensein von Eiweiß. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. 1909. p. 92.)
23. l. c. p. 92—93.

Nachdruck verboten.

## Organische Kohlenstoffernährung der Pflanzen.

### Parallele zwischen Pilzen und grünen Pflanzen.

(Fortsetzung aus Heft 1/9.)

Von Prof. Dr. Th. Bokorny.

Die Salicylsäure, Orthooybenzoësäure,  $C_6H_4(OH).CO_2H$ .

Sie wurde schon von Naegeli geprüft.

In 0,1proz. salicylsaurem Ammoniak (mit Mineralsalzen) wuchs eine sehr reichliche Vegetation von Spaltpilzen (*Micrococcus* und *Bacterium*) bei Zimmertemperatur.

Im Brutofen traten keine Spaltpilze auf; wahrscheinlich wegen der erhöhten Giftwirkung bei höherer Temperatur.

Trotz seiner giftigen Beschaffenheit kann also dieser Stoff bei geeigneter Verdünnung und nicht erhöhter Temperatur als Nahrung für Spaltpilze dienen.

Über grüne Pflanzen finde ich keine Beobachtungen.

Die Chinasäure oder Tetraoxymonocarbonsäure,  $C_6H_5(OH)_4.CO_2H$ .

Sie ist als Wasserstoffadditionsprodukt einer Tetraoxybenzoësäure aufzufassen:

$C_6H_5(H) \begin{cases} OH_4 \\ CO_2H \end{cases}$  kommt in den Chinarinden und Kaffeebohnen vor und wird als Nebenprodukt bei Bereitung des Chinins gewonnen.

In einer 0,2proz. neutralisierten Auflösung dieser Säure, welche schon von den Untersuchungen Naegelis und Loews her als eine auffallend gute Kohlenstoffquelle für Schimmelpilze bekannt ist, wuchs mir auf Zusatz einer Spur Hefe binnen wenigen Tagen eine kräftige Pilzvegetation heran. Mineralsalze waren natürlich auch dabei.

Dieselbe bestand aber nicht aus Hefe, sondern aus lebhaft beweglichen, sehr kleinen Stäbchen.

Um die Bakterienvegetation auszuschließen, wurde nun eine Lösung derselben Art hergestellt, wie vorhin, aber mit Phosphorsäure etwas angesäuert.

Es ergab sich wiederum keine Hefevegetation, trotzdem eine Spur rein-gezüchteter Bierhefe dazu gebracht worden war.

Die Chinasäure kann also der Bierhefe nicht zur Kohlenstoffernährung dienen, so günstig sie auch zur Ernährung von Bakterien und Schimmelpilzen ist.

In freier Chinasäure 0,1 Proz. wie auch 0,01 Proz. stirbt *Spirogyra setiformis* ab, gibt keinen Stärkeansatz (B., Chem.-Zeitg. 1894).

*Paraoxybenzoësäure*,  $C_6H_4(OH).COOH$ .

Sie ist in neutralisiertem Zustande für niedere Tiere und Pflanzen nicht schädlich (0,1 Proz.).

Eine 0,1proz. Lösung wurde von mir darum auf Ernährungstüchtigkeit untersucht.

Sie brachte (mit Kali neutralisiert und den nötigen Mineralstoffen vermischt) eine starke Pilzvegetation binnen 3 Wochen im Brutofen hervor.

Diese Vegetation bestand aber nicht aus *Saccharomyces*, trotzdem mit Preßhefe geimpft worden war, sondern aus Spalt- und Schimmelpilzen.

Für *Saccharomyces* scheint die (P) Oxybenzoësäure keine Nahrung zu sein (Dingl. polyt. Journ. Bd. 303.).

Die Spaltpilze bildeten einen rötlichen Bodensatz, während die Schimmelpilze eine Sporen bildende Decke an der Flüssigkeitsoberfläche darstellten.

Die Benzoësäure,  $C_6H_5.CO_2H$ , selbst wurde von Donath (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1891) an Hefe geprüft, aber mit negativem Erfolge; er fand sie giftig.

Bei Spaltpilzen ist nach meinen Versuchen eine ernährende Wirkung zweifellos festgestellt.

Denn eine 0,1proz. mit Kali neutralisierte und mit den nötigen Mineralsalzen versehene Lösung ließ binnen 4 Tagen im Brutofen eine ziemlich kräftige Spaltpilzvegetation entstehen (Pflüg. Arch. Bd. 66.).

Pfeffer fand schon 1895 (Jahrb. wiss. Bot.), daß sie eine Kohlenstoffquelle für Mikroben sei.

Amidobenzoësäure,  $C_6H_4(NH_2).CO_2H$ , und Nitrobenoësäure,  $CH_3(NO_2).CO_2H$ , wurden von O. Loew und Verf. als untauglich zur Kohlenstoffernährung der Pilze befunden. (Journ. f. prakt. Chem. 1887. und Centralbl. f. Bakt. 1891.)

Daß Hydrozimmtsäure,  $C_6H_5.CH_2.CH_2.CO_2H$ , d. i.  $\beta$ -Phenylpropionsäure, für Spaltpilze ein scharfes Gift sei, wurde schon von O. Loew (Bot. Centralbl. 1890. Nov.) hervorgehoben.

Desgleichen die giftige Beschaffenheit der Zimmtsäure,  $C_6H_5.CH:CH.CO_2H$ .

Phthalsäure,  $CO_2H.C_6H_4.CO_2H$ , in 0,2-proz. neutralisierter und mit Mineralsalzen versetzter Lösung ergab binnen 14 Tagen im Brutofen keine Spaltpilzvegetation.

Endlich sei noch erwähnt die Äpfelsäure.

Sie ist natürlich eine Kohlenstoffquelle für Bakterien (neutralisiert).

Hier liegen aber auch Versuche an grünen Pflanzen vor.

In 0,1-proz. mit Dikaliumphosphat neutralisierter Lösung von Calciumbimalat gediehen *Spirogyren*, die ausgehungert waren, sehr gut bei Kohlensäureausschluß, während die Algen des Kontrollversuches (mit Wasser allein) zugrunde gingen.

Nach 3 Tagen zeigten sich in den Fäden des ersteren Versuches sehr viele Stärke, sie hatten unter dem Mikroskop gutes normales Aussehen.

Die Fäden des Kontrollversuches zeigten keine Stärke (B., Chem.-Zeitg. 1894. No. 2.).

Versuche mit freier Apfelsäure mißlingen, ebenso wie die mit freier Weinsäure. Die freie Säure wirkt schädlich auf das Protoplasma ein, tötet dasselbe entweder oder versetzt es in einen Zustand, in welchem nichts mehr assimiliert werden kann.

Phenyllessigsäure,  $C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot COOH$  (ein Fäulnisprodukt).

Sie ist eine in faulenden Flüssigkeiten auftretende Substanz, ein intensiv riechender Körper.

Die 0,1proz. Lösung derselben, mit Kalkwasser neutralisiert und mit etwas Monokaliumphosphat versetzt, bringt Spirogyren zum Absterben.

Ein Stärkeansatz erfolgt natürlich in dieser giftigen Flüssigkeit nicht (B., Chem.-Ztg. 1891. No. 2.)

Über Pilze finde ich keine Angaben in der Literatur vor.

### Allgemeines über die Ernährgestüchtigkeit organischer Säuren.

Wie aus Vorstehendem ersichtlich ist, taugen viele organische Säuren zur Kohlenstoffernährung von Pilzen sowohl, wie auch von grünen Pflanzen.

Der Nährwert der Fettsäuren nimmt mit der Anzahl der Kohlenstoffatome im Molekül ab (wie bei den Alkoholen).

Essigsäure z. B. ernährt besser als Buttersäure (Naegeli, Stutzer).

Ferner sind hydroxylierte Säuren besser als die entsprechenden nicht hydroxylierten (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1891.).

Milchsäure z. B. ist besser als Propionsäure.

Weinsäure ernährt besser als Bernsteinsäure.

So interessant diese Verallgemeinerungen nun auch sind, so muß doch immer berücksichtigt werden, daß die Zahl der Beobachtungen gering ist, und daß dasselbe, was bei einem Pilz als wahr erkannt wurde, beim andern unwahr sein kann, so daß allgemeine Regeln nur mit starken Einschränkungen und Vorbehalten aufgestellt werden können.

### Rückblick zu den organischen Säuren als Kohlenstoffquellen.

Einige Worte seien zunächst der Elektion dieser Stoffe durch Pilze gewidmet.

Es sind nämlich durchaus nicht alle Pilze durch ein und dieselbe Kohlenstoffquelle ernährbar, wie ohne weiteres schon aus einigen der vorstehenden Angaben zu entnehmen ist.

So ist Propionsäure für manche Spaltpilze als Kohlenstoffquelle verwendbar, für Bier-Hefe, wie es scheint, nicht. Ferner sind manche Säuren Nährstoffe, andere keine oder minder gute.

Nach Artari (Abh. d. naturf. Ges. Halle. Bd. 21. 1897) ist für *Saccharomyces Zopfii* die Zitronensäure und die Weinsäure eine besonders gute, die Milchsäure und die Äpfelsäure hingegen eine weniger gute Nahrung.

E. Laurent hat mitgeteilt, daß Essigsäure für Hefe (wahrscheinlich Bierhefe) ernährend sei, nicht aber Propionsäure, Buttersäure, Baldriansäure (Ann. soc. belg. d. microsc. T. 14. 1890).

Daß die letzteren Säuren nicht nähren, läßt sich ja verstehen nach der

Loew'schen Regel (das chem. Verh. d. Bakt. Lebens, Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1891).

Der Nährwert der Fettsäuren und der einwertigen Alkohole der Fettreihe nimmt mit steigender Anzahl der Kohlenstoffatome ab. Z. B. ist Essigsäure besser als Buttersäure (Naegeli, Stützer) und Methylalkohol besser als Amylalkohol (Brown, Versuche mit *Bacterium aceti*, Chem. Soc. Journ. März 1886).

Nach derselben Regel läßt sich aber nicht begreifen, warum Zitronensäure und Weinsäure für Hefe bessere Kohlenstoffnahrung sind als Milchsäure und Äpfelsäure. Denn letztere haben weniger Kohlenstoffatome.

Es kommt bei Fettsäuren nun allerdings noch eine zweite Regel in Betracht (O. L., a. a. O.):

Hydroxylierte Säuren sind besser als die entsprechenden nicht hydroxylierten, was z. B. die bessere Nährkraft der Weinsäure gegenüber der Bernsteinsäure, dann die der Milchsäure gegen die Ernährungsunfähigkeit der Propionsäure bei Hefe erklären würde.

Warum Weinsäure besser ist als Milchsäure, läßt sich aus beiden Regeln nicht entnehmen. Eher müßte danach Weinsäure gegen Milchsäure zurückstehen, weil sie mehr Kohlenstoffatome hat.

Vielleicht machen es die zwei Hydroxylgruppen der Weinsäure aus.

Werden mehrere organische Säuren zugleich als Kohlenstoffquelle dargeboten, so ergeben sich recht interessante Dinge.

Nach Pasteur verbraucht *Penicillium* bei Darbietung von Rechts- und Linksweinsäure bloß die erstere.

Es handelt sich dabei nach Pfeffer nur um eine relative, nicht um eine absolute Deckung der Links- seitens der Rechtskomponente.

Die inaktive Milchsäure wird von Typhusbazillen gespalten, indem die Rechtskomponente übrig bleibt.

Der *Bacillus coli* soll nach Péré (Ann. Pasteur. T. 6. 1892) umgekehrt wirken.

Die Traubensäure (Rechts- + Links-Weinsäure) wird nach Pfeffer von *Monilia candida* so verwendet, daß von der Linksweinsäure bedeutend mehr übrig bleibt als von der Rechtsweinsäure.

Mandelsäure (Phenylglycolsäure),  $C_6H_5.CHOH.CO_2H$ , als inaktive Form angewendet, wird von *Saccharomyces ellipsoideus* so verarbeitet, daß Rechtsmandelsäure übrig bleibt (Lewkowitsch, Ber. d. Chem. Ges. Bd. 15. 1882).

Nach Mac Kenzie und Harden (Proceed. Chem. Soc. Vol. 19. 1903) bewirkt *Saccharomyces ellipsoideus* an der inaktiven Milchsäure eine Spaltung, wobei 5—10 Proz. Rechts-Milchsäure entstehen.

*Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger* wachsen gut auf Mandelsäurelösungen und verzehren die Linksform (Lewkowitsch, Ber. d. deutschen Chem. Ges. Bd. 15. 1892).

Weitere Beispiele dieser Art mögen hier übergangen werden. Es genügt, darauf hinzuweisen, welche feine Unterscheidungen manche Pilze bei ihrer Ernährung zu machen wissen.

Vermutlich hängt das mit der unbegrenzten Variabilität der Protoplasmastruktur zusammen, die bei jedem Organismus wieder anders ist.

Leider sind an grünen Pflanzen derartige Versuche bis jetzt nicht ausgeführt worden.

Es würden sich wohl sicher auch dort ähnliche merkwürdige Dinge ergeben.



Größere Fälle von Elektion (bei Pilzen) sind folgende:

Wenn dem Schimmelpilz *Aspergillus* Buttersäure und Essigsäure (als Salze) gleichzeitig nebeneinander geboten werden, so verbraucht er zuerst die Essigsäure, dann die Buttersäure (D u c l a u x, Ann. Past. T. 3. 1884).

Man begreift dies, wenn man weiß, daß die Buttersäure schlechter nährt als die Essigsäure.

Nun teilt aber D u c l a u x weiter mit, daß die Weinsäure, gleichzeitig mit Essigsäure geboten, langsamer verzehrt wird als die Essigsäure.

Beispielsweise waren nach 2 Tagen von den in äquivalenten Mengen gebotenen Säuren 95 Proz. der Essigsäure und nur 50 Proz. der Weinsäure verschwunden.

Die Sache kann wohl dahin gedeutet werden, daß für *Aspergillus* (sp.?) Essigsäure eine bessere Nahrung ist als Weinsäure, wiewohl meist das Umgekehrte der Fall ist.

Es läßt sich ja keinesfalls behaupten, daß die eine Substanz immer eine bessere Kohlenstoffnahrung sei wie die andere.

Das haben ja viele Untersuchungen dargetan.

Wenn im Vorausgehenden oder im folgenden davon die Rede ist, daß der eine Körper besser nähre wie der andere, so ist das immer so gemeint, daß in der Regel der eine dem andern vorzuziehen sei, wenn für sich allein angewandt.

Ausnahmen ergeben sich oft, namentlich bei Mischung verschiedener Kohlenstoffquellen.

Pfeffer (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 28. 1895) hat gezeigt, daß in Nährstoffgemengen, welche Essigsäure neben Dextrose enthalten, immer die Essigsäure in prozentisch höherer Menge als Dextrose in den Nährstoffwechsel hineingerissen wird, durch *Penicillium* ebensowohl als durch *Aspergillus*.

Werden auf 1 Teil Essigsäure etwa 10 Teil Dextrose geboten, so erweisen sich nach Ablauf des Versuches 75 Proz. der Essigsäure, aber nur 50 Proz. der Dextrose verbraucht.

Freilich wird schließlich die letzte Spur von Dextrose verzehrt.

Ist denn aber auch zu erwarten, daß bei Verhältnis 1 : 10 die Essigsäure stärker restiert als die Dextrose?

Angenommen, es sei das Tempo des Verbrauchs bei Essigsäure wesentlich geringer als bei Dextrose, was ja wohl vorausgesetzt werden darf, so muß doch schließlich die Essigsäure rascher verbraucht sein, weil sie ja in viel geringerer Menge zugesetzt war.

Während auf pilzchemischem Gebiete solche interessante Versuche in größerer Menge vorliegen, läßt sich das von den grünen Pflanzen leider nicht sagen.

Es scheint, daß hier bei Algen und höheren grünen Pflanzen das Dogma von der ausschließlichen Kohlensäureernährung noch allmächtig wirkt.

Man denkt nicht daran, daß auch grüne Pflanzen organisch ernährt werden können.

Und doch ist das auch bei organischen Säuren zweifellos nachgewiesen.

Soweit die Untersuchungen reichen — über grüne Pflanzen liegen viel weniger Beobachtungen vor als über Pilze —, so kann man bis zu einem gewissen Grade von einer Übereinstimmung sprechen.

	ernährt Pilze		ernährt grüne Pflanzen		
Zitronensäure					
Asparaginsäure	"	"	"	"	"
Glyoxalsäure	"	"	"	"	"
Essigsäure	"	"	"	"	"
Oxalsäure	"	"	"	"	"
Propionsäure	"	"	"	"	"
Buttersäure	"	"	"	"	"
Milchsäure	"	"	"	"	"
Valeriansäure	—	—	"	"	"
Bernsteinsäure	"	"	"	"	"
Weinsäure	"	"	"	"	"
Äpfelsäure	"	"	"	"	"

Ein negatives Resultat in dem Sinne, daß die Untersuchung für Pilze Nährkraft ergab, für grüne Pflanzen nicht, ist bis jetzt nicht bekannt geworden.

Freilich beschränken sich die Angaben meist auf Algen.

Untersuchungen an höheren Pflanzen wären wünschenswert, namentlich mit denjenigen organischen Säuren, welche zu den Fäulnisprodukten gehören und somit im Boden regelmäßig auftreten.

Dazu gehört z. B. die Essigsäure, ferner Buttersäure und Baldriansäure.

Verfasser hat schon einmal auf die praktische Wichtigkeit der Verwertung organischer Stoffe durch Algen (namentlich Diatomeen) hingewiesen, insofern, als diese bei der Selbstreinigung der Flüsse jedenfalls eine bedeutende Rolle spielen.

Sie arbeiten auch bei Verdünnungen, die ans Unglaubliche grenzen.

Eine zweite praktisch wichtige Seite der organischen Ernährung grüner Pflanzen ist dann die Bedeutung für das Wachstum der Kulturpflanzen auf Humusboden. Über beides wird später noch die Rede sein.

Daß grüne Pflanzen organische Ernährung haben können, ist wohl am längsten von den Algen bekannt (ausgenommen grüne Parasiten).

In neuerer Zeit hat Treboux (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 23. 1905) noch weitere Beweise erbracht, daß Algen ihren Kohlenstoff aus organischen Säuren schöpfen können.

Die Versuche wurden mit 0,05 bis 0,4 Proz. Kalisalzen der Zitronensäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Buttersäure, Propionsäure, Essigsäure, Ameisensäure gemacht, welcher die nötigen mineralischen Nährstoffe zugesetzt waren.

Die besten Ergebnisse waren mit Kaliumazetat in der Konzentration 0,28 Proz. zu verzeichnen.

Also wiederum dasselbe günstige Resultat wie bei früheren Versuchen mit Essigsäure.

Über den relativen Nährwert organischer Säuren ist nicht leicht etwas Allgemeingültiges zu sagen, da er von verschiedenen Umständen, wie Konzentration, Temperatur, in hohem Maße abhängt.

So ist nach meinen Beobachtungen die Normalbaldriansäure bei 0,05 Proz. für Mikroorganismen fördernd, bei 0,2 Proz. bereits giftig und hemmend.

Weinsäure ist bei 0,01 Proz. keine Nahrung mehr für Bakterien, weil zu verdünnt.

Es kommt ferner auf die sonstigen Bestandteile der Nährmischung an. Wenn Essigsäure neben Dextrose geboten wird, so wird erstere sogar

rascher verbraucht als die Dextrose (bei *Penicillium*, *Aspergillus*, siehe oben, vielleicht ist das nur scheinbar).

Es kommt auch sehr wesentlich auf die Art des zu den Versuchen angewendeten Organismus an.

Von diesem Standpunkt aus müssen auch die Untersuchungen *Maassens* über den Nährwert der Säuren beurteilt werden (Arb. d. kais. Gesundh.-Amt. Bd. 12. 1896).

Sie wurden bei Luftzutritt mit Nährlösungen angestellt, welche 1 Proz. Pepton und die Salze der zu prüfenden organischen Säuren in der Menge  $\frac{1}{10}$  des Mol. Gew. in g pro Liter enthielten, außerdem die nötigen Mineralstoffe.

Das macht z. B. bei Ameisensäure 4,6 g pro Liter oder 0,46 Proz.

Die Konzentration war bei diesem so giftigen Stoffe zu groß.

M. erhielt dann auch damit ein schlechteres Resultat.

Außerdem störte natürlich die Anwesenheit des Peptons, welches eine vorzügliche Kohlenstoff- und Stickstoffquelle zugleich ist, die Brauchbarkeit der Ergebnisse.

Die Kohlenstoffquellen wären jede für sich, ohne Zusatz einer zweiten Kohlenstoff-Quelle, zu prüfen gewesen.

Nach der Zahl der in den Lösungen gewachsenen und die Säure zersetzenden Bakterienarten stellte er folgende Reihenfolge fest:

Äpfelsäure, Zitronensäure, Fumarsäure, Glycerinsäure, Bernsteinsäure, Ameisensäure, Milchsäure, Schleimsäure, Weinsäure, Essigsäure, Propionsäure, Oxyessigsäure, Chinasäure, Maleinsäure, Malonsäure, Akonitsäure, Trikarballylsäure, B-Oxybuttersäure, Mandelsäure, K-Oxybuttersäure, Oxalsäure.

Die ersten acht (mit Ausnahme der Ameisensäure) sollen gute Nährstoffe sein.

Es handelt sich offenbar mehr um die Feststellung, welche organischen Säuren, als Salze geboten, die Peptonernährung der Pilze gar nicht oder doch mehr oder weniger stören. Die Säuren wurden natürlich meist auch bis zu einem gewissen Grade in den Stoffwechsel hineingerissen.

Als kräftigste Säureersetzer erkennt M. den *B. cyanogenus*, *B. fluorescens*, *B. fluorescens putidus*, *B. pyocyaneus*, *B. anthracis* und *B. pyocyaneus*.

*B. tuberculosis*, *B. anthracis*, *B. ramosus*, *Proteus Zenkeri* besitzen die Fähigkeit der Säureersetzung fast gar nicht.

Aromatische Säuren sind zum Teil auch Kohlenstoffquellen für Pilze.

Versuche mit grünen Pflanzen fehlen.

Salizylsäure ernährt Spaltpilze (*Naegeli*).

Salizylsäure fördert Schimmelpilze (*Nott*).

Benzoësäure vermag Spaltpilze zu ernähren.

Paraoxybenzoësäure desgleichen.

Chinasäure nährt gut.

Dagegen nährt Phtalsäure die Pilze nicht, soweit die bisherigen Beobachtungen reichen.

Nitrobenzoësäure ist indifferent.

Im allgemeinen kann man sagen, daß aromatische Säuren geringere Kohlenstoffquellen für Pilze sind, ausgenommen die Chinasäure.

Name der Substanz, Chemische Formel	Nährkraft bei Pilzen	Nährkraft bei grünen Pflanzen	Bemerkungen
<b>Organische Säuren</b> Ameisensäure $\text{H.CO.OH}$	In ameisenurem Natron wächst ein eigentümlicher rötlicher Bacillus ( <i>B. methylicus</i> Loew) von aeröber Beschaffenheit, der auch in formaldehydschwefligsaurem Natron gedeiht. Sonstige Pilze wurden von ihm bis jetzt in ameisenurehaltigen Lösungen nicht beobachtet. Nach Thiele verwendet <i>Penicillium</i> und auch <i>Aspergillus</i> die Ameisensäure ([Diss.] Leipzig 1896).	Hierüber liegen keine positiven Resultate vor.	Ameisensäure ist sehr giftig. Die Fäulnis der Gelatine wird durch 0,25% verhindert, die Entwicklung mancher pathogener Bakterien schon durch 0,006% (Hugo Scholz, J. Th. 15. p. 526). Der Bacillus methylicus Loew macht wahrscheinlich Formaldehyd und Kohlensäure daraus, ersterer wird assimiliert.
Essigsäure $\text{CH}_3.\text{COOH}$	Spaltpilze können Essigsäure als Kohlenstoffquelle benützen, wenn sie als essigsaures Ammoniak oder essigsaures Natrium dargeboten wird (Naegeli, a. a. O.). Je stärker sauer die Lösung des essigsauren Salzes gemacht wird, desto mehr verschwinden die Spaltpilze und kommen dafür zuerst (bei schwachsaurer Reaktion) die Sproßpilze, dann die Schimmelpilze auf. <i>Leptothrix ochracea</i> assimiliert Acetate (Lafar, Techn. Mykologie. I. p. 420).	Algen ernähren sich (bei $\text{CO}_2$ -Ausschluß) gut, wenn sie in eine Auflösung von 0,1-proz. essigsauren Kalk gebracht werden.	Die Essigsäure gehört zu den Fäulnisprodukten; sie ist also im Boden immer vorhanden, wenn Fäulnis stattfindet (natürlich nicht in neutralisierter Form). Als Nahrung für grüne Pflanzen auf Humusboden kommt sie demnach in Betracht und ist hier von besonderem Interesse.
Oxalsäure $\text{COOH.COOH}$	Ernährt Bakterien (als oxalsaures Kalium in 0,05-proz. Lösung). O. Loew, Giftwirkungen. p. 123. Oxalsäure soll nach Salzmann für Actinomyces odorifer günstiger sein als Milchsäure. 3% Oxalat ernährt <i>Penicillium</i> (Wehmer, Bot. Ztg. Bd. 49. 1891).	Oxalsaurer Kalk ernährt Keimpflanzen von <i>Brassica rapa</i> , freilich nur indirekt, nach vorausgehender Veratmung zu Kohlensäure (Stutzer, Botan. Zeitg. 1877. p. 222).	Oxalsäure ist für Pilze nicht giftiger als Weinsäure (Henneberg). Beijerincks Harnstoffbakterien nehmen mit Acetat und Oxalat gerne vorlieb (Lafar, I. p. 420).
Propionsäure $\text{CH}_3.\text{CH}_2.\text{COOH}$	In 0,2-proz. Propionsäure setzen Spirogyren im Lichte bei Kohlensäureausschluß Stärke an (B., Chem. Zeitg. 18. 1894. No. 2).	Die Propionsäure ist für Spaltpilze eine Kohlenstoffquelle. Für Hefe scheint sie nicht verwendbar zu sein (B., Pflüg. Arch. Bd. 66).	Ernährt nur bei Luftzutritt (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1891), ebenso wie Bernsteinsäure; Milchsäure u. Weinsäure ohne solchen.

Milchsäure $\text{CH}_3 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{COOH}$	In 0,4-proz. Lösung von milchsaurem Ammoniak (mit mineralischen Nährsalzen) erhielt Naegeli reichliche Spaltpilzvegetation (a. a. O. p. 312). Penicillium verzehrt aus i-Milchsaure hauptsächlich Linksmilchsäure.	Spirogyren setzen in 0,2 % bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß Stärke an.	Nach Frankel ist Milchsäure ein guter Nährstoff für viele saprotrophe u. paratrophe Bakterien (Hyg. Rundsch. Bd. 4. 1899).
Bernsteinsäure $\text{COOH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$	Nährt Hefe anscheinend nicht, ist für Spaltpilze eine mittlere bis geringe C-Quelle. Ernährt Schimmel (B. Meyer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1891).	Spirogyren setzen in 0,2 % bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß Stärke an. Bernsteinsaurer Kalk ernährt Keimpflanzen von <i>Brassica rapa</i> (Stutzer, a. a. O.).	Methyl- u. Äthylbernsteinsäure ernähren Penicillium - Schimmel (B. Meyer, a. a. O.). Diäthylbernsteinsäure nicht.
Weinsäure $\text{COOH} \cdot \text{CHOH} \cdot \text{CHOH} \cdot \text{COOH}$	Ist für Bakterien eine sehr brauchbare Kohlenstoffernährung, wenn sie neutralisiert (als Salz, z. B. 0,4 % weinsaures Ammon) angewendet wird. In 0,01 % wächst keine Bakterienvegetation, weil die Nahrung zu verdünnt ist. Weinsäure ist bei den meisten Hefen eine beliebte Kohlenstoffernährung (Meißner, Landw. Jahrb. 1901).	In 0,2 % setzen Spirogyren Stärke an. Weinsaure Kalk ernährt Keimpflanzen von <i>Brassica rapa</i> (bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß) (Stutzer, a. a. O.).	Rechtweinsäure wird durch <i>Monilia candida</i> bedeutend mehr angegriffen als Linkswinsäure (Pfeffer). Ebenso durch Penicillium (nach Pasteur).

Name der Substanz, Chemische Formel	Ernährungstüchtigkeit bei Pilzen	Ernährungstüchtigkeit bei Algen und anderen grünen Pflanzen	Bemerkungen
Buttersäure	In 0,1% (mit Kalkwasser neutralisiert) wachsen Spaltpilze, auch Schimmelpilze, aber keine Hefe (B., Chem. Ztg. 1896. No. 9). Jensens Denitrifikationsbakterien können Buttersäure assimilieren (Centralbl. f. Bakt. Bd. 5. 1899).	Spirogyren setzen in 0,1-proz., mit Kalkwasser neutralisierter Lösung Stärke an. Diatomeen bilden Fett.	Amidobuttersäure ist eine bessere Kohlenstoffquelle als Buttersäure (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1892. No. 11/12). Beggiatoen können Butyrat assimilieren (Lafar, I. p. 420).
Baldriansäure (Normal- oder Gärungs-)	Positive Resultate liegen bei Pilzen nicht vor. Hefe kann Baldriansäure nicht assimilieren (E. Laurent, Soc. belg. microsc. T. 14. 1890).	Spirogyren ernähren sich in 0,1-proz., mit Kalkwasser neutralisierter Lösung.	Trimethyllessigsäure $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_3 - \text{C} - \text{COOH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ wird vermutlich ein noch schlechterer Nährstoff sein als die isomere Baldriansäure (O. Loew, Ber. d. chem. Ges. 1892. No. 11/12).

Name der Substanz, Chemische Formel	Ernährungstüchtigkeit bei Pilzen	Ernährungstüchtigkeit bei Algen und grünen Pflanzen	Bemerkungen
Isobaldriansäure	Etwas weniger schädlich für Hefe als Baldriansäure. Positive Ernährungsergebnisse liegen nicht vor.	Positive Ernährungsergebnisse nicht bekannt.	
Zitronensäure $C_3H_5(OH)(COOH)_3$	Nach Naegeli Kohlenstoffquelle dritten Ranges für Pilze (im neutralisierten Zustande). Schimmel sowohl als Sproßhefe u. Spaltpilze können sich davon ernähren.	Spirogyren bilden Stärke in 0,2 % (bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß).	<i>Monilia</i> verschmäht zitronensäure (buttersäure, bernsteinsäure) Salze, ist aber mit essigsauren, weinsäuren, milchsauren, äpfelsäuren Salzen leicht zufrieden (Went, Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1901).
Asparaginsäure $COOH \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$	Gute Kohlenstoffquelle für Bakterien (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1891). do. für Sproßhefe (Bierhefe) (B. in Dingl. polyt. Journ. Bd. 303).	Spirogyren bilden Stärke in 0,2-proz. Lösung (bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß) (B., Chem. Ztg. 1894).	
Glyoxalsäure $COH \cdot COOH$	Ist Nährstoff für Bakterien (B., Chem. Ztg. 1896. No. 9).	<i>Spirogyra</i> bildet in 0,2 % Stärke bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß (B., Chem. Ztg. 1894).	Glyoxal ernährt nicht.
Brenztraubensäure $CH_3 \cdot CO \cdot COOH$	Nach O. Loew eine gute Kohlenstoffnahrung für Spaltpilze (Centralbl. f. Bakt. 1892).		
Lävulinsäure (Acetylpropionsäure) $CH_3 \cdot CO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$	do.		
Citronensäure	Kein Nährstoff für Schimmel (B. Meyer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1891. No. 21).		
Mesakonsäure	Kein Nährstoff für Schimmel (B. Meyer, a. a. O.).		
Salizylsäure $C_6H_4OH \cdot COOH$ (1, 2)	Nährt Spaltpilze (Naegeli, a. a. O.). Fördert Schimmelpilze nach Zott (Journ. soc. chem. Ind. Vol. 22. 1903).		

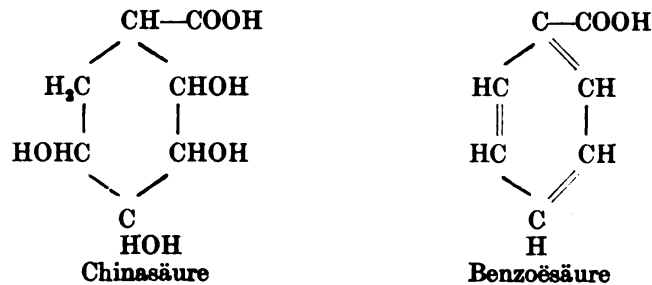
Chinasäure, Tetraoxy- monokarbonsäure $C_6H_7(OH)_4.COOH$	Ernährt (neutralisiert) Hefe nicht, da- gegen Schimmel- und Spaltpilze (B., Dingl. polyt. Journ. Bd. 303).	Freie Chinasäure tötet <i>Spirogyra seti-</i> formis bei 0,1 Proz. wie auch bei 0,01 Proz.; also kein Stärkeansatz.	Mit neutralisierter China- säure an Algen angestellte Versuche würden wohl positiv ausfallen.
Paraoxybenzoesäure $C_6H_4(OH).COOH$	Keine Kohlenstoffquelle für Hefe, wohl aber für Bakterien (B. in Dingl. polyt. Journ. Bd. 303).		Im neutralisierten Zustand für Algen, Pilze, Infuso- rien nicht giftig (0,1 Proz.).
Benzoësäure $C_6H_5.COOH$	Vermag Spaltpilze zu ernähren (B.), Hefe nicht (Donath). Pfeffer hat 1895 (Jahrb. f. wiss. Bot.) er- kannt, daß sie Kohlenstoffquelle für Mikroben sei.		
Amidobenzoësäure $C_6H_4(NH_2).COOH$	Nicht tauglich zur Pilzernährung (Loew u. B., Journ. pr. Chem. 1887).		
Name der Substanz, Chemische Formel	Ernährungskraft bei Pilzen	Ernährungskraft bei grünen Pflanzen	Bemerkungen
Phthalsäure $CO_2H_2C_6H_4.CO_2H$	Nährt Pilze nicht (B., Pflüg. Archiv. Bd. 66).		
Nitrobenzoësäure $C_6H_4(NO_2)CO_2H$	Indifferent, Pilze nicht ernährend, aber auch nicht giftig (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1891).		
Hydrozimmtäure $C_6H_5.CH_2.CO_2H$	Starkes Gift für Spaltpilze (O. Loew, Bot. Centralbl. 1890. Nov.).		
Zimtsäure $C_6H_5.CHCH.CO_2H$	do.		
Maleinsäure $C_2H_2(CO_2H)_2$ , isomer mit Fumarsäure	Nährt Schimmelpilze nicht (als Ammon- salz) (L. Buchner, Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1892. p. 1163); sehr schlech- ter Nährstoff für Spaltpilze nach O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1892. No. 11/12).		Ein Beispiel dafür, daß von zwei isomeren Körpern der eine Nährstoff, der andere Nichtnährstoff sein kann, bieten Fumar- säure u. Maleinsäure dar.
Fumarsäure, $CH_2$ $\parallel$ $C \begin{matrix} CO_2H \\ CO_2H \end{matrix}$	Nährt Schimmelpilze (als Ammonsalz) (L. Buchner, a. a. O.).		



Name der Substanz, Chemische Formel	Ernährungskraft bei Pilzen	Ernährungskraft bei grünen Pflanzen	Bemerkungen
Malonsäure $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ = $\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})_2$	Ernährt <i>Penicillium</i> (B. Meyer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1891).		Dibenzylmalonsäure ernährt <i>Penicillium</i> nicht (B. Meyer, a. a. O.).
Pikrinsäure, als Salze $\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})(\text{NO}_2)_3$	Indifferent für Bakterien (nicht giftig, nicht nährend). O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1891.		
Nitranilsäure Salze	Indifferent für Bakterien (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1891).		
Äpfelsäure (Oxybernsteinsäure) $\text{CO}_2\text{H} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{CO}_2\text{H}$	Kohlenstoffquelle für Bakterien. Für <i>Saccharomyces Zopfii</i> ist nach Artari Äpfelsäure (u. Milchsäure) eine weniger gute Nahrung als Zitronensäure und Weinsäure (Abh. d. naturf. Ges. Halle. Bd. 27. 1897).	In 0,1% Calcumbimalat gedeihen Spirogyren, setzen Stärke an (bei Lichtzutritt und $\text{CO}_2$ -Ausschluß). (B., Chem. Ztg. 1896. No. 2).	
Phenyllessigsäure $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$		Giftig. In 0,1-proz. neutralisierter Lösung sterben Spirogyren ab und setzen natürlich keine Stärke an (B. in Chem. Ztg. 1894. No. 2).	Gehört zu den Fäulnisprodukten.
Mandelsäure (Phenylglykolsäure) $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{CO}_2\text{H}$	Ist für die Ernährung des <i>Bac. prodigiosus</i> untauglich, während nach Sarkow (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1904) Chinasäure (mit Ammonnitrat) als Kohlenstoffquelle von demselben gebraucht wird. Dient <i>Sacch. ellipsoideus</i> und auch den Schimmelpilzen <i>Penicillium glaucum</i> und <i>Aspergillus niger</i> als Kohlenstoffnahrung.		<i>Sacch. ellipsoideus</i> erzeugt aus inaktiver Mandelsäure Rechtsmandelsäure (Lewkowitsch, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 15. 1882). <i>Penicill. glaucum</i> und <i>Asperg. niger</i> wachsen nach demselben gut auf Mandelsäurelösungen u. verzehren d. Linksform.
Dimethyloxybenzoesäure (i-)	Wird von <i>Penicillium glaucum</i> angegriffen, jedoch beide Komponenten gleichmäßig, während <i>Aspergillus niger</i> und <i>Aspergillus griseus</i> die rechtsdrehende Form etwas stärker verzehren (MacKenzie u. Harden).		



Die letztere ist nun freilich eine aromatische Säure von besonderer Art. Betrachten wir die Formeln der Chinasäure und der Benzoësäure nebeneinander:



Die Chinasäure besitzt vier alkoholische Hydroxylgruppen im Molekül, die Benzoësäure keine einzige, jene hat keine doppelte Bindung, diese drei solche!

Es wird damit nach O. Loew (Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1891) der große Nährwert der Chinasäure gegenüber dem der Benzoësäure begreiflich; denn sie enthält viermal die für die Eiweißbildung so günstige Gruppe CHOH.

Warum die aromatischen Säuren sonst nicht so günstig sind, läßt sich wohl verstehen, wenn man bedenkt, daß der Benzolkern schwer zu zertrümmern ist (bei chemischen Reaktionen).

Eine Zerlegung desselben muß aber doch selbstverständlich stattfinden, wenn die Säure zur Ernährung, zur Stärke-Glykogen-Eiweißbildung usw. dienen soll.

Weshalb die Benzoësäure, nicht aber die Phtalsäure, zur Ernährung dienen kann, ist vorläufig rätselhaft.

Letztere hat zwei Karboxylgruppen an den Benzolkern angehängt, erstere nur eine.

Vielleicht wirkt das Anhängen von Atomgruppen an das Benzolmolekül ungünstig, wenn es nicht Hydroxylgruppen sind.

Bemerkenswert ist in dieser Beziehung, daß auch Nitrobenzoësäure, obwohl ungiftig, doch nicht ernährend wirkt.

Endlich sei hier noch im Zusammenhang der Resultate gedacht, welche E. Laurent bei seinen Versuchen über Kohlenstoffernährung der Hefe durch organische Säuren erhielt; sie sind im Vorausgehenden einzeln erwähnt. Bei der Wichtigkeit dieser Arbeit lohnt sich eine Zusammenfassung.

E. Laurent verwendete Bier- und Weinhefen in Reinzuchten.

Positives Ernährungs-Resultat ergaben:

Essigsäure als Acetate des Kaliums, Natriums und Ammoniums,  
 Milchsäure als Kalium-, Natrium-, Ammonium-, Calciumlaktat,  
 Malonsäure und deren Kaliumsalz,  
 Bernsteinsäure und deren Ammoniumsalz,  
 Glycerinsäure als Kalium- und Calciumsalz,  
 Glycerinphosphorsäure als Calciumsalz,  
 Äpfelsäure als Kalium- und Ammoniumsalz,  
 Rechtsweinsäure als Kalium- und Ammoniumsalz,  
 Linksweinsäure,  
 Zitronensäure als Kalium- und Ammoniumsalz,  
 Schleimsäure,  
 Fumarsäure,  
 Asparaginsäure (und Asparagin),  
 Glutaminsäure,

alle in 1-proz. Lösung.

Nicht assimiliert wurden (von Bodensatzhefe), auch wenn als Salz angewendet:

Ameisensäure,  
Propionsäure,  
Buttersäure,  
Valeriansäure,  
Stearinsäure,  
Ölsäure,  
Buttersäure,  
Oxalsäure,  
Benzoëssäure,  
Salicylsäure,  
Gallussäure.

#### Kohlehydrate:

Da sie zum Teil selbst Baustoffe der Pflanzen sind, zum Teil durch verhältnismäßig geringfügige Veränderungen leicht werden können, ist ihre Nährkraft von vornherein wahrscheinlich.

Rohrzucker ( $C_6H_{12}O_6$ ).

Daß derselbe ein Nährstoff für Algen sei, wurde von Klebs (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1886) gezeigt, indem er Zygnemen in 10-proz. Rohrzuckerlösung züchtete.

Es gelang ihm, dieselben dabei 6 Monate lang im Dunkeln lebendig zu erhalten.

Meine eigenen Versuche ergaben, daß Spirogyren in 0,2-proz. Rohrzuckerlösung (bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß) vorzüglich gedeihen, während die Kontrollalgen — ohne die organische Substanz — bald Hungererscheinungen zeigen und zugrunde gehen.

Bei einem früheren Versuche wurde eine vollständig entstärkte Portion *Sp. majuscula* in 2 Portionen geteilt; die eine kam in kaliumfreie, bloß mineralische Nährlösung, die andere in kaliumfreie Nährlösung, welcher 0,5 Proz. Rohrzucker zugesetzt war. Nach 2 Tagen hatten die Algen der ersten Portion keine Stärke, die der andern reichlich Stärke.

Das Kalium wurde in beiden Fällen weggelassen, weil ich vorher gefunden hatte, daß die Stärkebildung aus Kohlensäure mit dem Kaliumgehalt der Nährlösung zusammenhängt.

J. Böhm, Über Stärkebildung aus Zucker. (Bot. Ztg. 1883), teilte schon im Jahre 1883 mit, daß Blattabschnitte gewisser Blütenpflanzen, z. B. Feuerbohnen, wenn sie entstärkt auf 10—20-proz. Zuckerlösung gelegt werden, innerhalb 1—14 Tagen (im Dunkeln) reichlich Stärkegehalt in den Chlorophyllkörnern erkennen lassen, und sprach zugleich den Gedanken aus, daß der normalen Stärkebildung in den Blättern — aus Kohlensäure bei Lichtzutritt — die Zuckerbildung vorausgehe, daß also die Stärke ein Umbildungsprodukt des durch Kohlensäureassimilation erzeugten Zuckers sei. Sowohl Rohrzucker als Traubenzucker erwiesen sich als tauglich zur Stärkeerzeugung.

Die gebildete Stärkemenge war abhängig von der Konzentration der Zuckerlösung; 1—5-proz. Zuckerlösung wirkte viel schwächer als 20-proz.

Böhm machte auch darauf aufmerksam, daß manche Blätter (von *Allium*, *Asphodelus*) normalerweise niemals Stärke bilden und sogar durch vieltägiges Einlegen in 20-proz. Zuckerlösung nicht dazu gezwungen werden können.

Jedenfalls ist der Zucker ein Material, aus dem event. Stärke gebildet werden kann in den Chlorophyllapparaten.

Wie stark die Hefe sich vermehrt, wenn ihr Rohrzucker dargeboten wird, hat N a e g e l i (a. a. O. p. 323) durch Versuche gezeigt.

„Enthält eine Nährlösung beispielsweise 9 Proz. Zucker, 1 oder 0,5 Proz. neutrales weinsaures Ammoniak und etwas mit Phosphorsäure neutralisierte Erbsen- oder Hefenasche, und wird diese Lösung je nach 2 Tagen erneuert, so kann während der ersten 4 Tage die Hefe sich auf das 4fache Gewicht vermehren, wenn die Trockensubstanz der jedesmal zur Aussaat benutzten Hefenmenge 3—4 % der Nährflüssigkeit ausmacht.“

„Aber das Wachstum ist am Ende dieser kurzen Zeit schon viel träger geworden und es hört bei Fortsetzung des Versuches bald ganz auf, wobei die Spaltpilze die Oberhand gewinnen. Durch Erhöhung der Temperatur auf Brutwärme, durch reichliche Luftzufuhr, durch Zusatz einer größeren Menge von Kaliphosphat und durch Anwendung von Nährsalzen statt der Asche wird zwar die Vegetation im allgemeinen sehr gefördert und durch etwas Säure werden die Sproßpilze gegenüber den Spaltpilzen begünstigt. Doch erleiden selbst unter den allergünstigsten Bedingungen die Sproßpilze, die den Stickstoff bloß in Form von Ammoniak erhalten, eine zunehmende Schwächung und gehen ihrem sicheren Untergang entgegen. Es läßt sich das Gewicht der Bierhefe mit Zucker und weinsaurem Ammoniak unter Durchleitung von Luft im Brutkasten auf das 12fache während 64 Stunden vermehren. Aber die Hefezellen sind dann viel fettreicher und stickstoffärmer geworden und sie sind in ihrer Lebensenergie geschwächt, indem sie an Gärtüchtigkeit eingebüßt haben und viel leichter der Konkurrenz der Spaltpilze erliegen.“

„Wird der Zutritt der Luft verhindert, so vermögen Ammoniaksalze mit Zucker die Sproßpilze zwar noch durch viele Generationen zu ernähren, aber die Vermehrung ist jetzt eine viel geringere und hört infolge von Erschöpfung nach viel weniger Generationen auf als bei Zutritt von Sauerstoff.“

Man sieht, wie die C-Ernährung der Hefe mit Zucker verschieden günstig ausfallen kann, je nach den sonstigen Bedingungen.

Bei dem lebhaften Interesse, welches die Frage der Hefeernährung und -vermehrung gegenwärtig erweckt, mag es nicht überflüssig sein, auch noch den Schlußpassus der N a e g e l i s c h e n Auseinandersetzung zu hören.

„Das Gesagte gilt für alle Ammoniaksalze, wobei indessen zu bemerken ist, daß, wenn dieselben für sich allein die Sproßpilze ernähren sollen, das weinsaure, zitronensaure, bernsteinsaure Salz günstiger wirkt, als das essigsaure und dieses günstiger als das salicylsaure und benzoësaure Ammoniak.

Befindet sich aber Glycerin oder Zucker in der Nährflüssigkeit, so verhalten sich die verschiedenen Ammoniaksalze fast gleich, insofern sie nicht antiseptisch wirken; auch das salpetersaure Ammoniak gibt keine ungünstigeren Resultate als die übrigen.

Dabei muß jedoch beachtet werden, daß bei Abschluß von Luft die Sproßpilze (wie alte Pilze) viel empfindlicher sind und daher ein allfälliger Säurezusatz sehr vorsichtig zu bemessen ist. So erweisen sich beispielsweise 0,8 Proz. Zitronensäure in einer 9-proz. Zuckerlösung, welche 0,5 Proz. neutrales zitronensaures Ammoniak und etwas Hefenasche enthält, entschieden als zu viel.

Die Vermehrung der Sproßhefzellen ist in diesem Falle äußerst träge; sie dauerte in mehreren Fällen nach 2 Jahren noch fort; es hatte sich in dieser

langen Zeit äußerst wenig Hefe gebildet und es war fast kein Zucker durch Gärung verschwunden.

Schädlicher als Zitronensäure und Weinsäure wirken freie Essigsäure und freie Salpetersäure. Gänzlicher Mangel an freier Säure gewährt zwar die günstigsten Bedingungen für das Wachstum der Sproßpilze, aber auch die größte Gefahr, daß sie durch Spaltpilze verdrängt werden.“

Daß auch Schimmel durch Rohrzucker ernährt wird, ersieht man z. B. aus folgendem Versuche Naegelis (a. a. O. p. 427):

Salpetersaures Kali . . .	0,4 %	} 300 ccm Nährlösung
reinsten Rohrzucker . . .	10 %	
Phosphorsäure (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) . . .	0,13 %	

Es bildete sich eine sehr starke Schimmeldecke.

Nach 2 Jahren waren die Schimmelpilze abgestorben, die 30 g Zucker vollständig verschwunden, größtenteils durch Oxydation. Das Destillat enthielt geringe Mengen von Weingeist, ein Beweis, daß sich noch etwas Sproßhefe gebildet hatte. Das Trockengewicht der Ernte betrug 3,7 g; darin befanden sich wenigstens 0,045 g Stickstoff, entsprechend 0,281 g Albumin, während die 30 g Kolonialzucker 0,018 g Stickstoff (0,06 Proz.) enthalten hatten. In Äther lösten sich 29,1 Proz. der Trockensubstanz auf, welche größtenteils Fett sein mußten.

Daß auch Spaltpilze den Rohrzucker zu assimilieren vermögen, unterliegt keinem Zweifel.

Es sei nur ein Versuch von Naegeli angeführt (a. a. O. p. 308):

Reinster Rohrzucker wurde zu 10 Proz. in Wasser aufgelöst, mit Mineralsalzen und mit 0,23 Proz. phosphorsaurem Ammoniak versetzt.

Es bildeten sich reichlich Spaltpilze, die Flüssigkeit stark trübend und eine Säuredecke bildend, in welcher sich ziemlich viele Monaden befanden.

Dann trat ziemliche Gasentwicklung auf, die Flüssigkeit wurde sauer (von Milchsäure) und es bildete sich eine dünne Schimmeldecke.

Rohrzucker ist nach Naegeli für Pilze eine Kohlenstoffquelle ersten Ranges.

Der Chemismus seiner Verwendung ist unbekannt.

Vielleicht wird er zuerst gespalten.

Bei der Verwendung zur Eiweißbildung muß wohl in Analogie mit der Eiweißbildung aus einfacheren Stoffen eine Zerspaltung in CH<sub>2</sub>O-Gruppen angenommen werden.

Bezüglich der Hefe und verschiedener Zuckerarten, zunächst des Rohrzuckers, sei noch erwähnt, daß nach P. Lindner und Saito (Wochenschr. f. Brauer. Bd. 27. 1910) der Rohrzucker hinsichtlich der Nährfähigkeit (nicht aber der Gärfähigkeit) hinter anderen Zuckern zurücksteht.

Die Versuche wurden mit untergärigen und obergärigen Brauereihafen, mit Brennerei- und Preßhefen, ferner mit Weinhefen, dann mit wilden Hefen, besonders Nachgärungshefen der Bierbrauereien, sowie mit Kahlhefen, Torulaarten und roten Hefen durchgeführt.

Die verwendeten Kohlehydrate waren Rohrzucker, Malzzucker, Dextrose, Lävulose, Laktose usw.

Von sämtlichen Kohlehydraten war Malzzucker die zur Ernährung am besten geeignete Zuckerart, Laktose die schlechteste.

Der so leicht vergärbare Rohrzucker war hier (zur Ernährung) weniger gut brauchbar.

Selbstverständlich zeigten im übrigen die verschiedenen Hefen verschiedenes Verhalten gegen die einzelnen Zuckerarten.

Dasselbe ist oft so charakteristisch, daß jede Hefe im Betrieb auch nach dieser Richtung geprüft werden sollte.

Mit dem erwähnten Resultat stimmt ein früherer Befund *Beijerinck's* überein, ja er übertrifft ihn sogar.

Danach vermag *Schizosaccharomyces octosporus* (von Rosinen) wohl Maltose, Fructose und Glucose, nicht aber Rohrzucker und Milchzucker zu assimilieren.

Hingegen weist nach *Artari* *Saccharomyces Zopfii* gerade das entgegengesetzte Verhalten auf, indem diese Hefenart wohl Saccharose und Glucose, nicht aber Maltose zu assimilieren vermag (?).

*Saccharomyces fragrans* soll sich nach *Beijerinck* der Hefenart *Saccharomyces Zopfii* gleich verhalten.

Man muß sich also vor Verallgemeinerung hüten.

So steht es auch hinsichtlich der Gärungskraft.

*Torula*-Arten, die sich bekanntlich von *Saccharomyces* und anderen durch den Mangel der Sporenbildung unterscheiden, entbehren, mit wenigen Ausnahmen, nicht ganz des Gärungsvermögens, wenn sie auch keine hervorragenden Alkoholproduzenten sind, ausgenommen einige Milchezucker vergärende Arten, welche starke Gärung hervorrufen.

Sie vergären Maltose schwierig oder gar nicht, dagegen Glucose, Mannose, Galactose und Fructose verhältnismäßig leicht.

Manche *Torula*-Arten vergären Rohrzucker nicht, weil sie ihn nicht invertieren.

Sie vermehren sich aber auf seine Kosten ebenso wie von anderen Zuckerarten, die nicht vergoren werden.

Bierhefe vergärt bekanntlich Maltose und Rohrzucker, ferner die sechs Kohlenstoffatome besitzenden Zucker, Dextrose und Laevulose, die d-Galactose usw.

Die d-Glucose oder Dextrose wird von allen Hefen vergoren, welche Alkohol überhaupt vergären, so von sämtlichen Kulturhefen (bis jetzt 700 Rassen durch *Lange* untersucht), ferner von allen Weinhefen.

Die d-Galactose (aus Manna) wird von fast allen Hefen vergoren, welche d-Glucose in Gärung zu versetzen vermögen (mit wenigen Ausnahmen).

d-Galactose wird nach *Lindner* auch von fast allen Hefen vergoren, welche die d-Glucose vergären (ebenfalls mit wenigen Ausnahmen).

Bezüglich der Diglycosen, welche nicht vergoren werden, wie Milchzucker von Bierhefe, gibt es eine einfache Erklärung, nämlich daß sie kein Milchezucker spaltendes Ferment haben und der Milchzucker doch nicht im ganzen vergoren werden kann.

Warum aber manche einfache Glycosen nicht von gewissen Hefen vergoren werden, dafür lassen sich nicht so leicht Gründe finden.

Warum vergären einzelne *Torula*-Arten d-Galactose und d-Mannose nicht?

Pentosen scheinen überhaupt niemals vergoren zu werden. Hier liegt es vermutlich an der Zahl der Kohlenstoffatome.

Hinsichtlich der Ernährungskraft sind die Unterschiede nicht so groß, aber doch vorhanden.

Ich konnte bei meinen Untersuchungen über Kohlehydraternährung keinen Fall finden, wo die Nährkraft völlig abging.

**Traubenzucker**,  $C_6H_{12}O_6$  oder  $CH_2OH.(CHOH)_4.CO.H$ .

In 0,2proz. Lösung von Traubenzucker wuchs mir auf Zusatz einer Spur reingezüchteter Bierhefe und der nötigen Mineralsalze binnen 2 Tagen so viel Hefe, daß sie einen deutlichen weißen Bodensatz bildete, während zuerst keine Spur einer Trübung sichtbar war (so wenig Hefe wurde in die Lösung gebracht). Unter dem Mikroskop erwies sich der Bodensatz als zusammengesetzt aus zahllosen Sproßverbänden und einzelnen Zellen der ursprünglich hineingebrachten Hefeart. (B., Dingl. polyt. Journ. Bd. 303.)

E. Laurent, Rech. physiol. sur les levures. (Ann. de la soc. Belge de microscope. T. 14.), hat ebenfalls gefunden, daß Traubenzucker von Bierhefe assimiliert wird. Er stellte außerdem fest, daß die Dextrose unter reichlicher Glycogenbildung von der Hefe assimiliert wird.

Damit verhält es sich wohl ähnlich wie mit der Stärkebildung aus Zucker in grünen Pflanzen. Der Überschuß der zugeführten Nahrung wird als Glycogen abgesetzt.

Für Spaltpilze ist Dextrose ebenfalls eine vorzügliche Kohlenstoffnahrung, wie von Naegeli und anderen festgestellt wurde.

Bei einem meiner Versuche wuchs in einer (nicht infizierten) 0,2proz. Dextroslösung binnen 4 Tagen, ja sogar schon binnen 2 Tagen, eine Bakterienvegetation heran, dieselbe trübend.

Neben den Bakterien wuchsen auch Sproßpilze, welche die Neigung hatten, zu Fäden auszuwachsen (B., Pflüg. Arch. Bd. 66.).

Desgleichen hat O. Loew mitgeteilt, daß Dextrose den Bakterien die nötige Kohlenstoffnahrung zu gewähren vermöge.

Für grüne Pflanzen ist der Traubenzucker ebenfalls eine vortreffliche Kohlenstoffnahrung.

So hat E. Laurent an etiolierten Kartoffeltrieben nachgewiesen, daß dieselben im Dunkeln reichlich Stärke ansetzen bei Zufuhr von Traubenzucker. (Sur la formation d'amidon. Bruxelles 1888.)

Versuche, die vom Verfasser, gemeinschaftlich mit M. Cremer und auf Veranlassung desselben, angestellt wurden, führten zu demselben Resultat bei Kartoffeltrieben.

Doch scheinen nicht alle Pflanzen gleich gut aus dem Zucker Stärke fabrizieren zu können (im Dunkeln).

Mit *Spirogyra maxima* erhielt ich (1896) keine Stärkebildung, als ich sie 48 Stunden lang im Dunkeln der Einwirkung 1proz. Traubenzuckerlösung überließ.

Vier Versuche dieser Art lieferten das gleiche negative Resultat.

Xylose verhielt sich im Dunkeln ebenfalls negativ.

Nun könnte bei Xylose (einer Pentose) eingewendet werden, daß dieselbe überhaupt keine zur Stärkebildung geeignete Substanz sei.

Allein für Rohrzucker und Dextrose ist dieser Einwand nicht möglich, da anderweitige Versuche das Gegenteil lehren.

Es kann also hier, da die angewandten Algen von tadelloser Beschaffenheit waren, nur der Lichtentzug Schuld gewesen sein.

Vermutlich ist bei Lichtabwesenheit die Ernährung mit Traubenzucker so gering, daß es zu keiner Stärkeanhäufung kommt.

Ja, ein Versuch, den ich damals mit Traubenzucker an *Spirogyra*

anstellte, weist sogar darauf, daß die Ernährung mit Zucker im D u n k e l n ganz ungenügend sein kann.

Es wurden zwei Proben im Dunkeln aufgestellt:

Die eine Nährlösung enthielt 0,1 Proz. salpetersauren Kalk + 1 Proz. Traubenzucker.

Die andere Nährlösung enthielt nur 1 Proz. Traubenzucker.

Nach 5 Tagen war beim ersten Versuch die Stärke völlig verschwunden, ja die Algen wiesen schon Hungererscheinungen auf; beim zweiten zeigte sich erst nach 10 Tagen völlige Stärkefreiheit.

Also reichte die Neubildung, wenn solche überhaupt da war (was doch vermutet werden darf), in beiden Fällen nicht aus, um den Verbrauch zu decken.

Vielleicht kommt es in der Zelle zuerst zu einer weitgehenden Zerspaltung des Zuckers, worauf dann diese niederen Spaltungsprodukte zu assimilieren, d. i. in Pflanzensubstanz umzuwandeln sind, welche Synthese bei Abwesenheit von Licht nicht gelingt.

Da bei Gegenwart von Calciumnitrat + Zucker die Entstärkung in der Hälfte der Zeit gelingt, die zur Entstärkung bei Zuckerzufuhr allein nötig ist, so scheint in ersterem Falle zugleich Verbrauch durch Eiweißbildung und damit Kohlehydratverwertung eingetreten zu sein.

Jedenfalls ist es sehr auffallend, daß, trotz der relativ reichlich vorhandenen Zuckermenge, die Stärke in beiden Fällen verschwand.

Von großem Interesse scheint es mir nun auch zu sein, welchen Einfluß wohl der Sauerstoff bei der Assimilation des Zuckers haben werde.

Gelingt die Assimilation des Zuckers ohne Sauerstoff nicht?

Frühere Versuche hatten hierüber M. C r e m e r und mir nämlich ergeben, daß S p i r o g y r e n bei Sauerstoffausschluß keine Stärke aus Rohrzucker oder Traubenzucker zu bilden vermögen.

Die Pflanzen wurden in eine Zuckerlösung gebracht, dann in einer Wasserstoffatmosphäre (unter beständiger Durchleitung von Wasserstoffgas) 6 Stunden dem Tageslichte ausgesetzt.

Es zeigte sich nach Beendigung des Versuches keine Spur von Stärke.

Ein zweiter, ebenso angestellter Versuch führte zum gleichen Ergebnis.

Das negative Resultat kann nicht etwa auf Kosten einer kränklichen Beschaffenheit der Algen gesetzt werden.

Denn letztere waren nach Beendigung des Versuches noch durchaus tadellos.

Sie setzten Stärke an, als sie nacher in eine sauerstoffhaltige Atmosphäre gebracht wurden.

Versuche mit X y l o s e lieferten dasselbe negative Resultat, desgleichen die mit L a e v u l o s e.

Außer S p i r o g y r e n wurden auch noch C o n f e r v e n geprüft. Sie lieferten das gleiche negative Resultat.

Bei später gemachten Versuchen (B., Pflüg. Arch. f. Physiol. Bd. 125) stellte sich nun heraus, daß die kurze Versuchszeit (6 Stunden) das negative Resultat verschuldet hatte.

Als ich die Versuche nach 6 Stunden unterbrach, zeigten die Spirogyren ebenfalls keinen Stärkeansatz.

Hingegen war nach 3tägiger Ernährung mit Rohrzucker bei Lichtzutritt und Sauerstoffausschluß ziemlich reichlich Stärke in den S p i r o g y r e n nachzuweisen (doch nicht so viel wie in einem Glyzerinversuch).

Auffallend bleibt immerhin, daß das Licht und der Sauerstoff sogar bei der Verwandlung von Zucker in Stärke eine Rolle spielt.

Bei Lichtentzug tritt gar keine Stärkebildung ein, bei Sauerstoffentzug nur sehr langsam.

Es scheint sich bei den Dunkelversuchen zu bestätigen, daß die Zuckerarten von *Spirogyren* relativ schwer zur Stärkebildung verwendet werden.

Im Dunkeln liefern sie gar keine Stärke, während z. B. Kartoffeltriebe im Dunkeln bei Zuckerernährung leicht Stärke ansetzen.

Dabei gehören *Spirogyren* nicht zu den Pflanzen, welche nur schwierig Stärke ansetzen.

Es ist jedenfalls sehr bemerkenswert, daß auch zu der Synthese Zucker-Stärke das Licht in Beziehung steht, wenigstens in gewissen Fällen Vor-schub leistet.

Etwas rätselhaft ist bis jetzt der Einfluß des Sauerstoffes auf diese Synthese.

Denn die Zuckerarten bedürfen keiner Oxydation, um in Stärke über-zugehen.



Es handelt sich rein chemisch nur um eine Wasserabspaltung.

Daß der Sauerstoff die Synthese fördert, kann wohl nur so verstanden werden, daß durch die Atmung Energie zur Synthese geliefert wird.

Das wäre also ein mittelbarer, kein unmittelbarer Einfluß auf diesen Vorgang.

Weitere Untersuchungen in dieser Richtung sind jedenfalls von Inter-esse.

Die *Laevulose*,  $\text{CH}_2\text{OH}(\text{CHOH})_3\text{CO}\cdot\text{CH}_2\text{OH}$ .

Auch sie lieferte mir ein positives Resultat an *Bakterien*.

Eine 0,2proz. Lösung dieses Zuckers, der auch die nötigen Nährsalze zugesetzt waren, ergab beim Stehen an der Luft eine starke Spaltpilztrübung binnen 4 Tagen.

Eine schwache Trübung war schon nach 2 Tagen zu bemerken.

Es waren ausschließlich Spaltpilze (keine Sproßpilze) von sehr kleiner, stäbchenartiger Form und lebhafter Beweglichkeit.

Aus *Laevulose* können viele *Phanerogamen* (Blätter) Stärke bilden (A. Meyer).

Fast alle untersuchten Blätter bilden Stärke.

Ausgehungerte Kartoffeltriebe setzen Stärke an, wenn sie in *Laevulose*-Lösung gebracht werden (E. Laurent).

Die *Galactose*,  $\text{CH}_2\text{OH}\cdot(\text{CHOH})_4\text{COH}$ .

Ein Versuch über Spaltpilzernährung gab positives Resultat.

In ähnlicher Weise wie bei *Laevulose* wurden Lösungen bereitet, welche 0,2 bis 0,5 Proz. Zucker enthielten, diesmal *Galactose* als einzige Kohlenstoffquelle.

Schon nach 2 Tagen trat Bakterientrübung in allen aufgestellten Ver-suchen ein.

Nach 4 Tagen war eine starke Spaltpilzvegetation da.

*Galactose* war von verhältnismäßig wenigen *Phanerogamen* zur Stärkebildung verwendet worden (A. Meyer).



Milchzucker, eine Diglykose  $C_{12}H_{22}O_{11}$ .

In Milchzuckerlösungen von 0,2 bis 0,5 Proz., mit den nötigen Mineralstoffen und einer Spur Bakterien versehen, entwickelte sich binnen 4 Tagen eine ziemlich kräftige Bakterienvegetation, bestehend aus Stäbchen.

Der Milchzucker war die einzige Kohlenstoffquelle in der Lösung.

Phanerogamenblätter können aus Milchzucker Stärke bilden (A. Meyer).

Ausgehungerte Kartoffeltriebe bilden Stärke (E. Laurent).

Nitrocellulose,  $C_6H_7O_2(NO_3)_3$ .

Schießwolle wurde mit Alkohol luftfrei gemacht, dann — nach dem Waschen — mit einer Auflösung von 0,02 Proz. Calciumnitr. + 0,01 Proz. Monokaliphosphat + 0,02 Proz. Magnesiumsulfat in Wasser zusammengebracht und längere Zeit im Dunkeln stehen gelassen.

In gleicher Weise wurde reine Baumwolle (also Cellulose) behandelt.

Nach 12 Tagen zeigte sich schon für das freie Auge ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Proben.

Die Flüssigkeit mit der Schießwolle zeigte flockenartig verteilte Massen, die mit Baumwolle bloß die zusammenhängende, ursprüngliche Wattenmasse.

Die mikroskopische Untersuchung lehrte, daß in der Flüssigkeit mit Schießwolle Pilze gewachsen waren, und zwar Fadenpilze.

Die freischwimmenden Flöckchen bestanden zum größten Teil aus *Penicillium* und gingen schon zur Fruktifikation über.

Eine sehr große Zahl der Pilzfäden war an den Schießwollfäden selbst festgewachsen und schien eine Fadenbakterie (wie *Beggiatoa* usw.) zu sein.

Die umspunnenen Schießwollfäden zeigten sich stark korrodiert, so daß man wohl annehmen darf, dieselben haben den *Beggiatoen* als Kohlenstoff- vielleicht auch als Stickstoffnahrung gedient.

Ein weiterer Versuch, bei welchem Schießwolle in reinem Wasser lag, zeigte, daß binnen 12 Tagen keinerlei Veränderung mit ihr vorging.

Inosit,  $CH_2OH.C(OH)_2.CH_2.(CHOH)_2.CH_2OH$ .

Derselbe scheint für Bakterien eine mittlere Kohlenstoffnahrung zu sein.

0,2proz. Lösung (mit Mineralsalz und Spur von Bakterienimpfung) ergibt binnen 4 Tagen eine nicht gerade schwache Bakterienvegetation.

Von Hefe wird er in 1—2proz. Lösungen schwach assimiliert.

Glycogenbildung tritt in solcher Lösung nicht ein (E. Laurent, a. a. O.).

Phanerogamenblätter können daraus Stärke bilden (A. Meyer).

Mannose,  $CH_2OH.(CHOH)_2.CO$ .

In einer 0,2proz., mit allen nötigen Mineralstoffen versehenen Auflösung von 0,2 Proz. Mannose als einziger Kohlenstoffquelle bildete sich auf Zusatz einer Spur bakterienhaltiger Flüssigkeit binnen 4 Tagen eine ziemlich kräftige Spaltpilzvegetation.

Hefe ernährt sich von Mannose, wenn man sie in eine Nährlösung mit Mannose als einziger Kohlenstoffquelle bringt (zuerst Hefespur — nach einigen Tagen Hefetrübung).

Xylose,  $CH_2OH.(CHOH)_3.CO$ .

Auch die Xylose vermag der Hefe (Bierhefe) zur C-Nahrung zu dienen, wie ich aus einem dem vorigen ganz ähnlichen Versuch ersah.

0,2proz. Xyloselösung, mit Mineralsalz und Spur Spaltpilzen versehen, ergab mir im Brutofen bei 25—28° binnen 4 Tagen eine Bakterien trübung.

Dieselbe war durch ungewöhnlich kleine Spaltpilze verursacht.

Die entstandene Hefetrübung war aber viel geringer wie bei Sorbose. Erythrodextrin.

Das Erythrodextrin wird nach E. Laurent (a. a. O.) von der Bierhefe unter Glycogenbildung assimiliert.

Salicin, ein Glycosid,  $\text{CH}_2\text{OH} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{O} \cdot \text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5$  oder  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  +  $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{smallmatrix} \text{OH} \\ \diagup \\ \text{CH}_2 \text{OH} \end{smallmatrix}$ .

Verschiedene Glycoside wurden von E. Laurent als Nährstoffe für die Bierhefe erkannt (a. a. O.).

Dazu gehört auch das Salicin, welches nach jenem Forscher die Hefe ernährt und darin Glycogenbildung hervorruft.

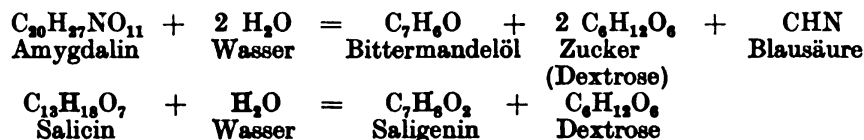
Amygdalin, ein Glycosid,  $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_{11}$  oder  $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CHO} + 2\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{CNH}$ .

Auch dieses wurde von E. Laurent als Kohlenstoffnahrung für Hefe erkannt.

Derselbe teilt auch mit, daß die Hefe im Amygdalinlösungen Glycogen bildet.

Diese Glycoside sind deswegen Nährstoffe, weil sie Verbindungen von Glycose mit anderen Stoffen sind (Saligenin bei Salicin, Bittermandelöl bei Amygdalin).

Die Glycose kann aus Glycosiden leicht abgespalten werden (unter Wasseraufnahme):



Vermutlich bewirkt die lebende Hefezelle ebenfalls eine Spaltung, wiewohl ihr diese Glycoside völlig fremd sind, denn im ganzen können ihre Moleküle sicher nicht zur Ernährung dienen.

Der frei gewordene Zucker wird zur Ernährung der Hefe und zur Glycogenbildung verwendet.

Ob auch das Saligenin verwendet werden kann, oder gar das Bittermandelöl, ist zu bezweifeln.

Leider liegen über diese Glycoside bei grünen Pflanzen keine Untersuchungen vor.

Die Rhamnose,  $\text{CH}_3 \cdot (\text{CHOH})_4 \cdot \text{COH} + \text{H}_2\text{O}$ .

Sie lieferte mir in 0,2proz. Lösung binnen 4 Tagen eine schwache, aus Stäbchen bestehende Bakterienvegetation; daneben eine ziemlich reiche Sproßpilzvegetation.

Sie scheint eine geringe Kohlenstoffquelle für Bakterien, eine bessere für Sproßpilze zu sein.

In 0,2-proz. Lösung von Rhamnose wächst, wenn die nötigen Mineralstoffe zugefügt sind und mit Hefe geimpft wurde, binnen wenigen Tagen eine Hefevergetation.

Die Rhamnose ernährt also Hefe.

**Sorbin**, **Sorbose**,  $\text{CH}_2(\text{OH}.\text{CHOH})_3.\text{CO}.\text{CH}_2\text{OH}$ . Eine Ketose.  
Sie wurde ebenfalls zu 0,2 Proz. in Wasser gelöst, mit den nötigen Mineral-  
salzen und dann einer Spur **Bakterien** versetzt.

Nach 4tägigem Aufenthalt im Brutofen zeigte sich eine deutliche  
**Spaltpilzvegetation**, welche eine starke, weiße Trübung in der Lösung  
verursachte; dieselbe bestand aus sehr kleinen Stäbchen.

**Arabinose**,  $\text{COH}(\text{CHOH})_3.\text{CH}_2\text{OH}$ .

Da die **Arabinose** eine **Pentose** ist, interessierten mich Versuche  
damit in besonderem Maße.

Eine 0,2proz. Auflösung (mit Mineralsalz) lieferte mir im Brutofen  
binnen 4 Wochen eine **Bakterienvegetation**, welche aus lauter ziemlich  
langen Stäbchen bestand.

Die Vegetation war aber nicht so stark wie bei **Laevulose**.

In 0,2proz., mit etwas freier Phosphorsäure und den nötigen Mineral-  
stoffen versehener Lösung wuchs mir nach erfolgter Infektion mit reiner  
**Bierhefe** im Laufe einiger Tage eine Vegetation dieses Pilzes.

**Maltose**, eine **Diglycose**,  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ .

Sie ist natürlich auch tauglich zur Ernährung von **Bakterien**.

Auch **Hefe** ernährt sich sehr gut von **Maltose**.

Ja nicht bloß das, sondern sie vergärt sie auch, nachdem sie sie durch  
ihr Ferment **Maltase** in 2 Dextrose-Moleküle gespalten hat.

In **Maltoselösungen**, welche 1—5 Proz. **Maltose** enthalten,  
speichert die **Hefe Glycogen** auf, ebenso beim Züchten in Würzgelatine  
(E. Laurent, Recherches physiologiques sur les levures. (Ann. Soc. Belge  
de microsc. T. 14.)

**Phanerogamenblätter** können nach A. Meyer, wie auch nach  
E. Laurent, die **Maltose** zur Stärkebildung verwenden.

**Raffinose**.

Vorzügliche Nahrung für **Monilia sitophila** (F. C. Went).

An einigen **Phanerogamenblättern** erhielt A. Meyer nega-  
tives Resultat.

**Dextrin**.

Vortreffliche Nahrung für **Monilia sitophila** (F. C. Went).

Von diesem Kohlehydrat nähren sich natürlich auch viele andere und ver-  
breitete Pilze, wie jede nicht vergiftete Gummilösung lehrt.

**Inulin**.

Geringer Nährstoff für **Monilia sitophila** (F. C. Went).

**Cellulose**.

Vorzügliche Nahrung für **Monilia sitophila** (F. C. Went).

Natürlich muß sie zuvor durch ein Ferment gelöst werden.

Die **Zellulose** ist durch ihre Unlöslichkeit in der Regel zur Ernährung  
von Pilzen und grünen Pflanzen, wie auch der Tiere, untauglich.

Nur solche Organismen, welche sie durch fermentative Prozesse in Zucker  
und dergleichen lösliche, diffundierbare Stoffe umzuwandeln vermögen,  
können von ihr als Kohlenstoffnahrung Gebrauch machen, freilich dann nicht  
mehr von ihr selbst, sondern von dem Umwandlungsprodukt.

Fast gar kein Pilzwachstum zeigte sich, bis auf wenige Fasern, welche  
mit **Beggiatoen** umspinnen waren.

Ein gleicher Versuch mit **Baumwolle** lehrte, daß dieselbe ganz intakt  
blieb.

Offenbar fehlte es an den zur Ernährung nötigen Mineralstoffen in beiden Fällen.

Eine Lösung von 0,05 Proz.  $\text{PO}_4$   $\text{KH}_2$  + 0,02 Proz.  $\text{K}_2$   $\text{HPO}_4$  + 0,01 Proz.  $\text{Ca SO}_4$  + 0,02 Proz.  $\text{Mg SO}_4$  + 0,02 Proz.  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  in reinem Wasser wurde mit Schießwolle versetzt und mit verschiedener Art beschickt, um die Pilzbildung zu beobachten.

Nach 12 Tagen zeigte sich ein starkes Pilzwachstum.

Rasen von Pilzen waren entstanden; teilweise standen sie noch in Zusammenhang mit der Schießwolle, und die Pilzfäden schienen die Schießwolle zu umspinnen, behufs Ernährung.

Manche Räschen waren an der Oberfläche emporgestiegen und hatten dort Sporen gebildet.

Da in dem letztgenannten Falle keine Kohlenstoffquelle sonst zur Verfügung stand, muß die Nitrocellulose als solche gedient haben.

Darauf weist auch die Umspinnung der Wolle mit Pilzfäden hin.

Hingegen fand eine solche Umspinnung nicht statt, als ich zur Lösung, außer den genannten Salzen und etwas schwefelsaurem Ammonium, Glycerin als Kohlenstoffquelle hinzufügte.

In diesem Falle konnte das Glycerin als Kohlenstoffnahrung verwendet werden. Dasselbe ist leichter verwendbar als Schießwolle.

Versuche, die Nitrocellulose gelöst zur Ernährung anzuwenden, scheiterten, da eine Auflösung von Schießwolle in Essigäther oder in Aceton sofort Flocken ausscheidet, wenn man diese Lösung in Wasser gießt, um etwa 0,1 Proz. wässrige Nährlösung herzustellen.

Auch Nitrorohrzucker und Nitromannit sind in kaltem Wasser unlöslich, weshalb Versuche mit ihnen unterblieben.

Aus den Versuchen mit ungelöster Schießwolle und mineralischer Nährlösung geht hervor, daß dieselbe durch Pilze angreifbar ist.

Freilich können Pilze in derselben nur dann wachsen, wenn die nötigen Mineralstoffe da sind.

Doch genügt da eine geringe Menge, so daß die Möglichkeit einer Zerstörung von Schießwolle durch Pilze wohl ins Auge gefaßt werden muß.

### Allgemeines über die Ernährungstüchtigkeit der Kohlehydrate.

Soweit sie löslich sind, stellen sie meist Nährstoffe ersten Ranges dar, wenn man von solchen überhaupt noch reden darf. Denn nach neuesten Forschungen herrschen große, spezifische Unterschiede, und es gibt wohl keinen Körper, der für alle Pilze eine gute Kohlenstoffnahrung darstellt. Ja manchmal versagen sonst gute Nährstoffe bei einem Pilze völlig.

So wächst *Aspergillus pseudoclavatus* nach Puriewitsch (Schrift. d. naturf. Ges. Kiew. Bd. 16. 1899) auf Lactose; andere *Aspergillus*-Arten sollen diese Zuckerart verschmähen.

*Monilia javanensis* ernährt sich nicht von Lactose, wohl aber *Monilia sitophila*.

Manche thermophile Bakterien verwerten nach Michaëlis (Arch. Hyg. Bd. 36. 1900.) nur Glucose, manche auch Milchzucker.

Das stimmt übrigens überein mit den Erfahrungen, welche A. Meyer, Schimper und E. Laurent bei ihren Versuchen mit Kohlehydraten und Blättern phanerogamer Pflanzen machten.

Nicht alle geprüfte Blätter ergaben Stärkebildung, selbst nicht mit den günstigsten Zuckerarten, wie Dextrose und Laevulose.

Galactose ergab nur bei wenigen Blättern Stärkebildung.

Bemerkenswert ist auch, daß sogar die einzelnen Entwicklungsstadien eines Pilzes sich verschieden verhalten, z. B. gegen Lactose (D u c l a u x, Ann. Pasteur. T. 3. 1889.).

Ferner ist bei der Vergleichung verschiedener Kohlenstoffquellen die Konzentration nicht gleichgültig, insofern nämlich bei höheren Konzentrationen die erste die zweite, bei niederen die zweite die erste übertreffen kann.

So ist Glyzerin unterhalb 30 Proz. sogar der Glucose überlegen, während es über 30 Proz. geringeren Nährwert hat (N i k i t i n s k y, Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 37. 1902).

Bei aquimolekularen Lösungen freilich soll die Glucose immer der bessere Nährstoff sein.

Das Optimum der Konzentration für beide Nährstoffe fällt auf isosmotische Werte.

Nicht gleichgültig ist es ferner, ob sonst noch Kohlenstoffquellen geboten werden und welche.

So können nach J e n s e n (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 5. 1899) bestimmte Denitrifikationsbakterien Zucker nur dann verwerten, wenn er gleichzeitig mit organischen Säuren geboten wird. Mit Nährsalzen, Salpeter und Zucker allein findet kein Wachstum statt.

Nach W e n t (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901) gibt *Monilia* bei Ernährung mit Raffinose allein nur 19 mg Erntetrockengewicht, wenn Glyzerin 25 mg ergibt. Beide zusammen ergeben aber 150 mg. Also wird durch Kombination die Ausnutzung gefördert.

Auch die Art der Stickstoffquelle ist von Einfluß.

Nach W e n t (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901.) ist Saccharose für *Monilia* die beste Kohlenstoffquelle, wenn Asparaginsäure als Stickstoffquelle zur Verfügung steht.

Wird letztere durch Alanin ersetzt, so ist Glyzerin besser.

Recht wichtig ist auch die Temperatur.

Nach Thiele (Die Temperaturgrenzen der Schimmelpilze. Diss. Leipzig 1896) verwendet *Penicillium* Zucker bei 32° nicht, wohl aber Glyzerin und auch Ameisensäure.

Auch die Luftzufuhr ist von Bedeutung.

Nach Chudjakow wird *Bac. subtilis* bei Luftzutritt durch Dextrose besser ernährt als durch Glyzerin, während in reinem Sauerstoff der Nährwert beider Stoffe gleich groß ist.

In komprimiertem Sauerstoff ist mit Dextrose (auch bei Peptonzufuhr) keine Entwicklung zu erreichen, während Glyzerin mit Pepton noch bei 3 at Sauerstoffdruck das Wachstum erlaubt.

Dextrose und Salpeter, ferner auch Pepton allein, wirken in reinem Sauerstoff besser als in Luft (aus L a f a r, chem. Technol. I. p. 416 entnommen).

Was die spezifischen Unterschiede im Verhalten gegen Kohlehydrate anlangt, so entnehme ich dem genannten vortrefflichen Handbuche noch folgende Angaben:

Nach W e n t (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901) sind für *Monilia sitophila* die Raffinose, die Maltose, das Dextrin und die Zellulose

vortreffliche Nahrungstoffe, gegen welche die sonst so beliebte Dextrose wie auch die Laevulose und die Laktose und noch mehr die Saccharose und das Inulin zurückstehen.

*Monilia javanensis* verwertet nach Went und Prinsen-Geerligs Lactose überhaupt nicht, wohl aber andere Kohlehydrate.

Dafür, daß nahe verwandte Pilze sich ein und demselben Kohlehydrat gegenüber sehr verschieden verhalten können, liefert auch die von Herzberg gemachte Beobachtung einen Beleg, demzufolge die Galaktose zwar für jede der von ihm untersuchten fünf Species von *Ustilago* untauglich ist, Saccharose und Dextrose aber für *U. Hordei* und *U. Tritici* ganz gut und für *U. Jensenii*, *U. perennans* und *U. Avenae* weniger gut gebraucht werden können, während Maltose gerade für die drei letztgenannten gut und die zwei erstgenannten minder gut ist.

Wir beobachten also bei der Ernährung ähnliche Dinge, wie sie bei den Gärungsprozessen schon früher bekannt geworden sind.

Die Bierhefe vermag Saccharose und Glucose usw. zu vergären, aber nicht Milchzucker.

Manche andere Hefenarten vermögen auch den Milchzucker zu vergären.

Es kommt da offenbar auf eine spezifische Konfiguration der Protoplasma- bzw. der Enzym-Moleküle an.

Wenn sie genau zu dem zu verarbeitenden Molekül paßt, wird dasselbe leicht in Angriff genommen, wenn weniger genau, dann schwer, wenn ganz und gar nicht, dann unterbleibt die Verwendung.

Jedenfalls kann auf diese Weise die Verwendung oder Nichtverwendung großer Moleküle verstanden werden.

Sie müssen ja alle zuerst zerlegt werden, um Verwendung zu Ernährungszwecken finden zu können.

Dazu gehören nun aber die Kohlehydrate.

Bei Stoffen von kleinem Molekül ist diese Erklärung nicht anwendbar.

Warum kann z. B. Ameisensäure (als Formiat) von einigen Pilzen zur Kohlenstoffernährung gebraucht werden, von der großen Mehrzahl aber nicht?

Dafür dürften andere Gründe maßgebend sein, z. B. die verschiedene Giftigkeit der Ameisensäure und ihrer Salze (die ja doch in wässriger Lösung eine teilweise Dissoziation erleiden) gegen verschiedene Organismen, das verschieden starke Reduktionsvermögen der Pilze, die verschieden starke Fähigkeit, eine Atomverschiebung im Sinne der bei Ameisensäure oben angegebenen Gleichung nach Königs usw.

Alles in allem kann man sagen, daß die Kohlehydrate treffliche Kohlenstoffquellen für Pilze sind.

Nicht leicht findet mit anderen Stoffen eine so ausgiebige, rasche Vermehrung und Substanzneubildung statt, wie wenn Kohlehydrate als Kohlenstoffquelle geboten werden.

Wohl können wir hier als Gradmesser für Verwertbarkeit zur Ernährung die Bierhefe gebrauchen, welche in der Auswahl der Kohlenstoffquellen ziemlich heikel zu sein pflegt.

Von allen geprüften Kohlehydraten fand ich keines zur Kohlenstoffernährung der Hefe untauglich.

Eine Ausnahme machen nur die unlöslichen, wie Zellulose.

Was die Pentosen anlangt, so wurden im vorausgehenden zwei aufgeführt, von denen bei Pilzen positive Resultate zu verzeichnen sind, nämlich die Xylose und die Arabinose.

Beide werden sogar von Hefe assimiliert.

Xylose ergab bei *Spirogyra* bisher negatives Resultat.

Wenn die Pentosen auch unvergärbare sind, so können sie doch zur Ernährung von Hefe dienen.

Auch H. van Laer und Croß & Bevan erhielten bei Hefe unter gewissen Bedingungen positives Resultat (nach Lafer, Techn. Mycol. Bd. 4. p. 95).

Bemerkung über Glycogen und Glycogenbildner. E. Laurent (a. a. O.) stellte fest, daß die Hefe große Mengen von Glycogen aufspeichern könne.

In einem an assimilierbaren Kohlehydraten reichen Nährboden kann dieselbe bis zu 38,6 Proz. Glycogen, auf Trockensubstanz berechnet, ansammeln.

Mikrochemisch ist es nachweisbar mit einer Lösung aus 6 g Jodkalium + 2 g Jod + 120 g Wasser. Durch dieses Reagens wird das Glycogen tiefbraun gefärbt (Eiweiß färbt sich rein gelb).

Sollte dennoch ein Zweifel bestehen, so kann man nach einer von L. Errera gemachten Beobachtung dadurch Gewißheit erlangen, daß man das mit Jodlösung behandelte Präparat sehr behutsam auf 60—70° erwärmt.

Das blasse Gelb der gefärbten Eiweißstoffe bleibt, das Rotbraun des Glycogens hingegen verschwindet, um dann aber beim Erkalten in seiner früheren Stärke zurückzukehren.

Wenn man durch Drücken auf das Deckglas die zuvor mit Jodlösung behandelten Zellen zerquetscht, kann man durch flinkes Beobachten unter dem Mikroskop feststellen, daß der gebräunte Inhaltsbestandteil alsbald nach seinem Austreten in die umgebende Flüssigkeit sich in dieser auflöst. Was dann vom Zellinhalt noch übrig bleibt, zeigt das reine Gelb, wie es alle mit Jod behandelten Eiweißkörper geben.

In einigermaßen größerer Menge vorhanden, fällt das Glycogen dem Mikroskopiker schon im ungefärbten Präparat durch sein starkes Lichtbrechungsvermögen auf.

Der Sitz des Glycogens ist vielleicht der Vakuolensaft.

Es sind aber nach Wagner und Guillermond zwei Arten von Vakuolen zu unterscheiden. Die einen enthalten Glycogen, die anderen nicht.

Auch fehlt es nicht an Stimmen, welche dem Glycogen einen anderen Platz in der Zelle zuerkennen (H. Will).

Eine Anhäufung von Glycogen kann man z. B. durch Züchten der Hefe in Würzgelatine erreichen, welche reichlich Zucker, namentlich Maltose enthält.

Diese ist nach M. Cremer ein echter Glycogenbildner.

Als echten Glycogenbildner bezeichnet man jeden Stoff, dessen Kohlenstoff nach der Darreichung im abgelagerten Glycogen sich vorfindet, der also quantitativ in dem Glycogen sich wiederfindet.

Der Begriff Glycogenbildner ist freilich auf tierphysiologischem Gebiete erwachsen.

Es gibt dabei wieder direkt wirkende und indirekt wirkende.

Direkt Glycogen bildend wirkt z. B. die Dextrose.

Ein indirekter Glycogenbildner aber ist der Rohrzucker.

Wenn man ihn an Tiere verfüttert, so findet sich sein Kohlentoff in der Leber wieder.

Er dient zur Glycogenbildung erst nach vorangegangener Spaltung in Dextrose und Laevulose.

„Unechte Glycogenbildner“ sind ferner solche, bei deren Verfütterung zwar der Glycogen-Gehalt zunimmt, ohne daß aber der betreffende Stoff selber das Material dazu liefert.

Zu letzteren gehört z. B. die *Arabinose*, eine Pentose.

Die meisten Pentosen aber zählen zu den Nichtglycogenbildnern.

Frentzel hat mit Xylose nur negative Resultate erzielt.

Dagegen sind alle gärenden Zuckerarten Glycogenbildner.

Was die Hefe anlangt, so hat E. Laurent unter den von ihm untersuchten Kohlehydraten und verwandten Stoffen den Rohrzucker, ferner die Dextrose, den Milchzucker, die Maltose (diese besonders hervorragend), den Inosit, Mannit, das Erythro-dextrin als Glycogenbildner nachweisen können.

Die Lösungen wurden sehr kräftig, z. B. der Milchzucker 40 proz., angewendet.

Die Lösung wurde nach vorhergehender Untersuchung auf Glycogen in die Lösung gelegt.

M. Cremer hat die Hefe zuerst ausgehungert und damit in „Carenzhefe“ verwandelt. Mit solcher Carenzhefe hat er dann festgestellt, daß sie gegen Pentosen sich ganz negativ in bezug auf Glycogenbildung verhalte.

Man darf übrigens nicht glauben, daß die Hefe oder andere Pilze mit den Pentosen gar nichts anzufangen wissen.

Verf. hat, wie schon erwähnt, verschiedene Stoffe auf ihre Ernährungsfähigkeit, d. h. ihre Verwendbarkeit als Kohlenstoffquelle, geprüft, indem er reine Präparate der zu untersuchenden Stoffe zu einer Nährlösung als einzige Kohlenstoffquelle hinzusetzte. Die Hefe wurde spurenweise zu einer mit den reinsten Materialien hergestellten Nährlösung gebracht, worin die zu prüfende Zuckerart die einzige Kohlenstoffquelle war.

Von Zeit zu Zeit wurde nachgesehen, ob sich Trübung und Bodensatz zeigten.

Wenn ja, dann wurde zur mikroskopischen Untersuchung geschritten. Meist wurde 0,2proz. Lösung genommen.

Binnen vier bis vielen Tagen konnte in positiven Fällen Trübung und dann Bodensatz wahrgenommen werden.

Arabinose und Xylose, zwei Pentosen, ergaben auf diese Weise positives Resultat; sie dienten der Hefe als Kohlenstoffquelle.

Man muß also wohl unterscheiden zwischen Glycogenbildnern und Kohlenstoffquellen.

Etwas Ähnliches darf man wohl auch bezüglich der Stärkebildung sagen.

Denn es kommt vor, daß organische Kohlenstoffquellen ernährend wirken, aber doch keinen Stärkeansatz hervorrufen.

Wenn man bedenkt, daß die Kohlehydrate eine spezifische Konfiguration im Molekül besitzen, wird der Unterschied zwischen bloß ernährenden und Glycogen bildenden Substanzen wohl begreiflich.

Wenn auch kein Glycogen gebildet wird, so können doch andere Kohlehydrate, ferner Eiweißstoffe als Bausteine der lebenden Zellen entstehen.

Wie verhält sich nun die Hefezelle, wenn man ihr Glycogen selbst zuführt?



E. L a u r e n t machte die Angabe, daß die Hefezellen fähig seien, das in einer Nährlösung enthaltene Glycogen dieser zu entnehmen und anzusammeln.

Doch ist diese Behauptung von M. C r e m e r, ferner von K o c h und H o s a e u s als unrichtig erklärt worden.

An einer obergärigen, wie auch an zwei untergärigen, Hefen konnten die letzteren feststellen, daß das dem Nährboden (Würze bezw. Fleischextraktlösung mit und ohne Traubenzuckerzusatz) zugefügte Glycogen, und zwar ebensowohl solches aus Tierleber wie auch das aus Hefe, ohne nachweisliche Verwertung und Ausnützung blieb.

Ja es wirkte herabstimmend auf die Zellvermehrung und die Gärkraft.

Die Hefeernte und der Alkoholgehalt in den mit Glycogen versetzten Zuchten fiel geringer aus als in den davon freien.

Sie schlossen daraus auf das Unvermögen der Hefezellen zur Ausscheidung eines hydrolysierenden Enzyms, durch welches das Glycogen der Nährlösung in vergärbaren Zucker hätte übergeführt werden können.

Im Innern der Hefezellen kann die Hydrolyse vollzogen werden, wie schon aus der gelegentlichen Verwendung des Glycogens in der Zelle hervorgeht.

Daß die Hydrolyse durch ein besonderes Ferment, die Glycogenase, bewirkt wird, nicht durch das Hefeplasma selbst, geht schon aus der Beobachtung C r e m e r s hervor, wonach Hefe, in Chloroformwasser gelegt, ihr Glycogen hydrolisiert.

Auch die Tatsache, daß das Glycogen durch Hefepreßsaft vergoren wird, spricht hierfür.

R a p p hat dies beobachtet.

Da nun das Glycogen keinesfalls direkt vergoren wird, sondern erst nach vorausgegangener Spaltung, da ferner in dem Hefepreßsaft wahrscheinlich kein lebendes Plasma mehr vorhanden ist, so muß diese Erscheinung auf das Wirken eines Fermentes, der noch hypothetischen weil noch nicht isolierten Glycogenase, geschoben werden.

Dasselbe passiert die Zellmembran nicht, sondern wirkt nur im Innern der Zellen.

Bis jetzt wurde von folgenden Nichtzucker- und Nichteiweißstoffen nachgewiesen, daß sie Anlaß zur Glycogenspeicherung geben können:

Milchsäure, Bernsteinsäure, Apfelsäure, Asparagin, Glutamin, Mannit.

Es ist natürlich ausgeschlossen, daß diese Stoffe alle direkt zum Aufbau des Glycogens dienen; sie müssen zuerst zerlegt, reduziert, oxydiert usw. werden, um tauglich zu sein.

Mit F o r m a l d e h y d ist die G l y c o g e n b i l d u n g bei Hefe bis jetzt nicht gelungen.

Sicherlich liegt das an der Giftigkeit des Formaldehydes.

Denn man muß die Formaldehydlösung so verdünnen, daß eine ernährende Wirkung kaum durch Glycogen-Ablagerung sichtbar werden kann.

Nimmt man stärkere Lösungen als 0,005 bis 0,002 Proz., so tritt eine schädliche Wirkung an der Hefe ein.

Vielleicht kann auch hier durch die Methode beständiger Zufuhr von Spuren des Formaldehyd (wie bei Spirogyren) zum Ziele führen.

Wahrscheinlich ist es ja, daß der Formaldehyd durch die Hefe zu Glycogen aufgebaut wird, nachdem doch aus dem Formaldehyd so leicht Zucker

Name der Substanz, Chemische Formel	Nährkraft bei Pilzen	Nährkraft bei Algen und höheren grünen Pflanzen	Bemerkungen
Kohlehydrate. Rohrzucker $C_{12}H_{22}O_{11}$	Hefe kann sich in Lösungen, welche Rohrzucker als einzige Kohlenstoffquelle enthalten, binnen 4 Tagen auf das Vierfache vermehren. (Nägeli, a. a. O. p. 323.) Schimmel kann durch Rohrzucker als einzige Kohlenstoffquelle gut ernährt werden. (Nägeli, a. a. O. p. 427.) Spaltpilze ernähren sich von Rohrzucker (N., a. a. O. p. 308) sehr gut. Rohrzucker ist für Pilze eine C-Quelle ersten Ranges.	Zygnemen bleiben in 10-proz. Rohrzuckerlösung 6 Monate lang im Dunkeln lebendig. (Krebs, Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1886.) Vaucherien bilden Stärke. Spirogyren bilden aus Rohrzucker Stärke (B). Blattschnitte von Blütenpflanzen (z. B. Feuerbohnen) bilden aus 10—20-proz. Rohrzuckerlösung Stärke (J. Böhm, Bot. Ztg. 1883), ebenso alle von A. Meyer geprüften Blütenpflanzen. Im Dunkeln erhielt ich binnen 48 Stunden auf 1-proz. Lösung keine Stärke mit <i>Spirogyra maxima</i> . (B., Pflüg. Arch. Bd. 125.)	Der Rohrzucker kann offenbar von Pilzen und grünen Pflanzen recht gut zur Ernährung gebraucht werden. Guter Nährstoff auch für <i>Ustilago Hordei</i> u. U. <i>Tritici</i> , weniger gut für U. <i>Jenseni</i> , <i>perennans</i> , <i>avenae</i> . (Herzberg, Zopfs Beitr. 1895). Mittlerer Nährstoff für <i>Monilia sitophila</i> (F. C. Went, Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1896.)
Traubenzucker $(CH_2OH.CHOH.CHOH.CO.H.OH)$	Wird von Hefe stark assimiliert unter Glykogenbildung. (E. Laurent, Recherches physiologiques sur les levures. Ann soc. Belge de microsc. T. 14). Gute Kohlenstoffnahrung für Bakterien. (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1892.)	<i>Spirogyra maxima</i> ergibt im Dunkeln auf 1% keine Stärke binnen 48 Stunden. Fast alle von A. Meyer geprüften Blätter ergaben Stärkebildung, Kartoffelsprosse nach E. Laurent ebenfalls.	Mittlere Nahrung für <i>Monilia sitophila</i> (Went).
Lävulose (Fructose) $CH_2OH.(CHOH)_3.CO.CH_2OH$	Spur Hefe entwickelt sich in 2-proz. Lösung binnen 4 Tagen zu beträchtlichem Bodensaatz. (B., Dingl. polyt. Journ. Bd. 303.) Gute C-Nahrung für Bakterien. (O. L., a. a. O.)	Fast alle Blätter bilden Stärke (A. Meyer), ebenso Kartoffelsprosse (E. Laurent).	Mittlere Nahrung für <i>Monilia sitophila</i> (Went). Die Stärkebildung in Blättern soll aus Laevulose noch reichlicher geschehen wie aus Dextrose.
Galaktose $CH_2OH.(CHOH)_4.CO.H.O + H_2O$	Dient der Hefe als Kohlenstoffnahrung. (B., Dingl. polyt. Journ. Bd. 303.) Glykogen wird daraus gebildet. (Cremér, Zeitschr. f. Biol. Bd. 31.) Gute C-Nahrung für Bakterien. (O. L.)	Wenige Blätter erzeugen aus Galaktose Stärke (A. Meyer). Kartoffelftriebe bilden Stärke (E. Laurent).	Für <i>Ustilago Hordei</i> , U. <i>Tritici</i> , U. <i>Jenseni</i> , U. <i>perennans</i> , U. <i>avenae</i> soll Galaktose als Nahrung untauglich sein. (Herzberg, Zopfs Beitr. 1895. H. 5. p. 1.)
Milchzucker, Laktose (Dextrose + Galaktose) $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Ernährt Hefe. (B., a. a. O.) Nach E. Laurent Glykogenbildner, nach M. Cremer aber nicht.	Aus Milchzucker bilden Kartoffelftriebe Stärke (E. Laurent).	<i>Monilia javanensis</i> soll sich von Laktose nicht ernähren (F. C. Went).

Rhamnose $\text{CH}_3 \cdot (\text{CHOH})_4 \cdot \text{COH} + \text{H}_2\text{O}$	Bakterien können sich davon ernähren. (B. in Pflüg. Arch. Bd. 66.) <i>Aspergillus pseudoclavatus</i> wächst darauf (Puriewitsch).		wohl aber <i>Monilia sitophila</i> ! Erstere von anderen Kohlehydraten.
Sorbin, Sorbose $\text{CH}_2\text{OH} \cdot (\text{CHOH})_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_2\text{OH}$	Wird von Hefe ziemlich leicht assimiliert (B., a. a. O.) in 0,2-proz. Lösung. Für Bakterien geringe C-Quelle.		
Arabinose $\text{COH} \cdot (\text{CHOH})_3 \cdot \text{CH}_2\text{OH}$	Hefe wächst, aber nicht viel (B., a. a. O.) in 0,2 %. Bakterien gedeihen.		
Maltose (Dextrose + Dextrose) $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} + \text{H}_2\text{O}$	Hefe ernährt sich davon (0,2 %). (B., a. a. O.) Bakterien gedeihen		
Inosit $\text{CH}_2\text{OH} \cdot \text{C}(\text{OH})_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot (\text{CHOH})_2 \cdot \text{CH}_2\text{OH}$	Wird unter starker Glykogenbildung von Hefe assimiliert (E. Laurent). Ist für Spaltpilze eine gute Kohlenstoffnahrung.	Dahlia variabilis bildet reichlich Stärke (A. Meyer), desgleichen Kartoffeltriebe (E. Laurent).	Maltose gute Nahrung für <i>Monilia sitophila</i> , ferner für <i>Ustilago Hordei</i> , <i>U. Tritici</i> , weniger gut für <i>U. Jenseni</i> , <i>U. perennans</i> u. <i>U. avenae</i> . (F. C. Went, Went u. Prinsen, Herzberg.)
Mannose $\text{CH}_2\text{OH} \cdot (\text{CHOH})_4 \cdot \text{COH}$	Wird von Hefe (in 1—2 %) schwach assimiliert ohne Glykogenbildung (E. Laurent). Wird von Hefe assimiliert (B., a. a. O.) in 0,2 %. In 0,2 % Mannose wächst kräftige Bakterienvegetation. (B., Pflüg. Arch.)	Ergab bei A. Meyers Untersuchungen an Blättern negatives Resultat.	Nach E. Fischer (Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 23. 1890) greift Bierhefe vorwiegend d-Mannose an, läßt l-Mannose ziemlich intakt. Das ist nun allerdings in erster Linie ein Spaltung- u. Gärungsvorgang, keine Verwendung zu Sauerstoffferzeugung.
Xylose $\text{CH}_2\text{OH} \cdot (\text{CHOH})_3 \cdot \text{COH}$	Wird von Hefe assimiliert (B., a. a. O.). Brauchbar zur Bakterienernährung (B., a. a. O. p. 135).	Spirogyra maxima bildet in 1-proz. Lösung im Dunkeln binnen 48 Stunden keine Stärke. (B., Pflüg. Arch. Bd. 125.)	
Mannit $\text{CH}_2\text{OH} \cdot (\text{CHOH})_4 \cdot \text{CH}_2\text{OH}$ ein Alkohol (siehe auch Alkohole)	Wird von Hefe assimiliert unter Glykogenbildung (E. Laurent).	Tauglich zur Stärkebildung bei Phanerogamen (E. Laurent, A. Meyer).	

Name der Substanz, Chemische Formel	Nährkraft bei Pilzen	Nährkraft bei Algen und höheren grünen Pflanzen	Bemerkungen
Erythrit $\text{CH}_2\text{OH} \cdot (\text{CHOH})_4 \cdot \text{CH}_2\text{OH}$ , ein Alkohol (siehe auch Al- kohole)	Wird von Hefe in 1-proz. Lösung schwach assimiliert unter Glykogenbildung (E. Laurent).	Bei Blütenpflanzen nicht verwendbar zur Stärkebildung, auch Spirogyren geben keine Stärke (in 0,2 %).	
Erythrodextrin	Wird von Hefe unter Glykogenbildung assimiliert (E. Laurent).		
Salicin (Glykosid) $\text{CH}_2\text{OH} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{O} \cdot \text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_6$	Wird von Hefe unter Glykogenbildung assimiliert (E. Laurent).		
Amygdalin (Glykosid) $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_{11}$	Wird von Hefe assimiliert unter Gly- kogenbildung (E. Laurent).		
Zellulose $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$	Vorzügliche Nahrung für Monilia sito- phila (F. C. Went) (kann natürlich nur zur Nahrung dienen, wenn sie vorher durch Fermente gelöst wurde).		Die Unlöslichkeit steht der Verwendung als Nähr- stoff entgegen. Doch ver- mag M. s. davon als Koh- lenstoffquelle Gebrauch zu machen, indem sie jedenfalls fermentative Lösung bewirkt.
Raffinose	Vorzügliche Nahrung für Monilia sito- phila (F. C. Went).	A. Meyer erhielt an Blättern damit negatives Resultat.	
Dextrin $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$	Vortreffliche Nahrung für Monilia sito- phila (F. C. Went). Wohl auch sonst guter Nährstoff, wenn er eindringt.	Versuche bei grünen Pflanzen fehlen.	Die kolloidale Beschaffen- heit des Stoffes ist dem Eindringen in die Zellen hinderlich. Es wird wohl zuvor eine Verzuckerung Platz greifen müssen.
Inulin $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$	Geringerer Nährstoff für Monilia sito- phila (F. C. Went).		
Nitrocellulose (Schießwolle)	Während Zellulose von gewöhnlichen Pilzen nicht angegriffen wird, unter- liegt die Schießwolle, wenn sie in Nähr- salz-haltiges Wasser gelegt wird, den Angriffen von gewöhnlichen Wasser- pilzen wie Beggias, welche sie be- fallen, umsponnen, korrodieren und offenbar als Nährstoff benutzen.		Schießwolle unterliegt der Pilzerstörung viel leicht- er als Baumwolle (B., in dieser Abhandlung).

wird und dieser nach den Untersuchungen von E. Laurent (an Hefe) und M. Cremer (an Tieren) als Glycogenbildner dienen kann.

Grube, Entstehung von Glycogen aus Formaldehyd (Pflüg. Arch. Bd. 21) hat im Verlauf seiner Untersuchungen über Zucker und Glycogen an der Schildkrötenleber auch den Formaldehyd in den Kreis seiner Betrachtungen gezogen.

Er nahm auch Durchströmungsversuche mit Formaldehyd an der überlebenden Schildkrötenleber vor, um die Frage zu entscheiden, ob das Leberglycogen auch aus kleineren Bausteinen, als der Zucker ist, entstehen könne.

Nach den Angaben von Grube ergaben die ersten, nicht veröffentlichten Versuche negative Resultate, weil die Konzentration des Formaldehyd zu stark genommen war.

In den weiteren Versuchen wurde deshalb der Formaldehyd nur in ganz schwacher Konzentration angewandt.

Um aber der Leber eine genügend große Menge zuzuführen, wurden große Mengen Durchspülungsflüssigkeit längere Zeit durch die Leber geleitet.

Grube verwandte bei seinen Versuchen Lösungen, welche 0,01—0,02 Proz. käuflichen Formaldehyd enthielten.

Da der käufliche Formaldehyd nur 40 Proz. ist, so war die wirklich von ihm angewandte Konzentration halb so gering, also 0,05—0,01 Proz.

Seine sämtlichen Versuche hatten unter verschiedenen Versuchsbedingungen immer ein positives Ergebnis.

Freilich wurde dieses Ergebnis in letzter Zeit von Schöndorff und Grebe angezweifelt (Pflüg. Arch. Bd. 138. 1911). Die Verfasser glauben, auf Grund ihrer Versuche, die Ansicht aussprechen zu dürfen, daß die Bildung von Glycogen aus Formaldehyd in der überlebenden Schildkrötenleber nicht erwiesen sei.

Es ist zweifellos zu begrüßen, daß auch Tierphysiologen sich nunmehr der Frage, ob aus Formaldehyd in den Zellen Kohlehydrat werden könne, zugewendet haben.

Freilich die große Bedeutung, wie auf pflanzenphysiologischem Gebiete, hat die Formaldehydforschung in der Tierphysiologie nicht.

Denn bei Pflanzen handelt es sich darum, ob der Formaldehyd generell als Zwischenglied bei der Assimilation, als erste Stufe der Kohlensäurereduktion, auftritt.

Von diesem Standpunkte aus ist es nun eigentlich nicht unverständlich, wenn der Formaldehyd bei Pilzen kein Glycogen ergibt. Denn der Formaldehyd ist sonst Vorstufe zur Stärke und letztere wird bei Pilzen nicht gebildet.

Das Glycogen ist, außer bei der Hefe, noch bei *Aethalium septicum*, dem Schleimpilz der Gerberlohe, gefunden worden.

Behrend, ferner Reinke und Rodewald, behaupteten seine Identität mit dem Glycogen der Säugetierleber.

Das *Fuligo-Plasmodium* enthält nach Reinke 4,7 Proz. Glycogen.

Im Epiplasma der Scheibenpilze, deren stark lichtbrechendes Aussehen gleich nach Ausbildung der Sporen bereits de Bary 1863 hervorgehoben hatte, fand Errera eine in Vakuolen gelöst vorkommende Substanz vor, welche die rotbraune Jod-Reaktion des Glycogen ergab.

Errera entdeckte dieselbe Substanz dann auch in der Hefe, ferner in dem Pferdemitpilz *Pilobolus*, in dem schwarzen Schimmelpilz *Phycomyces nitens* und bei einer Anzahl von Basidienpilzen.

**Amidokörper.**

**Harnstoff**  $\text{NH}_2\text{CO.NH}_2$ .

Schon 1887 (Journ. f. pr. Chem.) wurde der Harnstoff von O. Loew und Verf. auf die Ernährungskraft als Kohlenstoffquelle bei Algen geprüft.

Es zeigte sich, daß in 0,2 proz. Lösung Spirogyren nicht gediehen.

Die Fäden waren nach 5 tägiger Einwirkung der Harnstofflösung meist dem Tode nahe, die Chlorophyllbänder waren stärkeleer, ohne Zacken und zusammengeschrumpft, öfters zerrissen.

Das farblose Plasma war meist intakt, manchmal kontrahiert, nur hie und da granuliert.

Die Algen in 0,2 Proz. Lösung von Sulfoharnstoff waren ebenfalls meist dem Tode nahe, zeigten aber in vielen Zellen noch Stärkegehalt.

Auch in 0,1 Proz. Harnstoff kränkelten die Algen schon nach einigen Tagen.

Ich nahm daher die Lösung noch etwas verdünnter.

Harnstoff wurde zu 0,05 Proz. in kaltem Wasser gelöst und die Lösung mit einigen Tropfen einer vorrätigen 10 proz. Monokaliumphosphatlösung versetzt.

In dieser Lösung blieben die Spirogyren mehrere Tage lebend, am dritten Tage zeigte sich in allen Zellen erhebliche Stärkebildung, aber nicht soviel wie in einem gleichzeitig aufgestellten Versuch mit Tyrosin.

Spaltpilze waren in der Lösung nicht aufgetreten.

Der Versuchsraum war kohlen säurefrei (durch starke Kalilauge).

Also hatte der Harnstoff die Stärkebildung hervorgerufen.

Da der Harnstoff eine der Hauptverunreinigungen der Flüsse, in welche Siele eingeleitet wurden, darstellt, ist die Sache vom Standpunkt der Selbstreinigung der Flüsse von Interesse.

Aber auch für Landwirtschaft und Gartenbau ist das wichtig, weil der Harnstoff ein beträchtlicher Bestandteil des Naturdüngers ist und im angebauten Boden sich vorfindet.

Für Bakterien kann der Harnstoff nur schwierig als Kohlenstoffnahrung verwendet werden (B., Chem. Ztg. 1896. No. 9).

Für *Bacterium Termo* ist nach Cohn (Beiträg. z. Biol. d. Pfl. Bd. 1. 1870) der Harnstoff als Nahrung nur dann tauglich, wenn noch eine andere Kohlenstoffquelle geboten wird.

Auch *Bacillus subtilis* gedeiht nur bei gleichzeitiger Zufuhr von Zucker und Harnstoff (A. Fischer, Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 27. 1804).

Dabei ist nun freilich fraglich, ob der Harnstoff nicht als Stickstoffquelle dient.

Versuche, welche E. Laurent (Ann. soc. belg. de micr. T. XVI. 1890) mit Harnstoff als Kohlenstoffquelle für Hefe anstellte, führten zu einem negativen Resultat.

Luft- zutritt	{	<p>Naegeli (a. a. O. p. 429) erhielt mit Harnstoff 1 Proz., 2 Proz., 4 Proz. keine Pilzvegetation (bei Luftzutritt und Aschenzusatz).  Harnstoff 1 Proz. + Citronensäure 2 Proz. (+ Hefenasche) lieferte reichlich Schimmelbildung.  Harnstoff 1 Proz. + reinsten Rohrzucker 9 Proz. + Phosphorsäure 0,2 Proz. (+ Asche) ergab Sproßhefe und Gärung.  Harnstoff 1 Proz. + Glycerin 9 Proz. + Phosphorsäure 0,2 Proz. (+ Asche) ergab reichliche Schimmelbildung.</p>
------------------	---	--

Aus den Versuchen geht hervor, daß der Harnstoff sowohl für Hefe wie auch für Schimmel als Stickstoffnahrung dienen kann.

Vermutlich ist das auch bei Bakterien der Fall. Die obigen Lösungen waren zu sauer für Bakterienwachstum.

Faktisch finde ich unter Naegeli's Versuchen auch solche, welche Bakterienvegetation ergaben.

S. 432: Harnstoff 0,5 Proz. + Äthylalkohol 2,3 Proz. + mineralische Nährsalze (Luftzutritt). — Ein Glas im Brutkasten zeigte mäßige Spaltpilzbildung mit saurer Reaktion, nachher eine dicke Schimmeldecke.

S. 44: Harnstoff 1 Proz. + Zucker 9 Proz. + Phosphorsäure 0,2 Proz., neutralisierte Erbsenasche, ohne Luftzutritt. Reichliche Sproßpilze und Spaltpilze.

Der Harnstoff dient also auch Bakterien als Stickstoffquelle.

Alles in allem kann man sagen, daß der Harnstoff den Pilzen nur schwierig als Kohlenstoffnahrung, leicht als Stickstoffnahrung dient.

Ein Versuch mit Algen ergab mir, daß der Harnstoff wahrscheinlich auch für diese eine Stickstoffnahrung sei.

In einer Nährlösung, welche 0,02 Proz. Harnstoff, außerdem etwas Monokaliumphosphat, Calciumsulfat, Chlorcalcium und Magnesiumsulfat enthielt, blieben Spirogyren 4 Wochen lang durchaus gesund und zeigten kräftiges Wachstum sowie reichen Stärkevorrat.

Da ein anderer stickstoffhaltiger Stoff als Harnstoff nicht anwesend war, scheint die  $\text{NH}_2$  Gruppe des Harnstoffs verwendet worden zu sein. (B., Chem.-Ztg. 1894. No. 2.)

Glycocoll,  $\text{CH}_2\text{NH}_2\text{CO}_2\text{H}$ .

In 0,1 proz., mit Kalkwasser neutralisierter Lösung von Glycocoll, der etwas Monokaliumphosphat zugesetzt war, bildeten Spirogyren bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß binnen 3 Tagen Stärke in allen Fäden (B. a. a. O.). Glycocoll ist also C-Nahrung für Spirogyren.

Was die Pilze anlangt, so ist, soweit meine Untersuchungen reichen, das Glycocoll eine Kohlenstoffnahrung für Schimmelpilze (Chem.-Ztg.. 1896. No. 9.).

Als Stickstoffnahrung habe ich das Glycocoll bei *Spirogyra nitida* versucht. (Chem.-Ztg. 1896. No. 7.)

In einer Nährlösung, welche keine weitere Stickstoffquelle als Glycocoll 0,1 Proz. enthielt, blieb *Sp. nitida* 3 Wochen lang kräftig und wuchs sichtlich, während dieselbe Spirogyrenart mit 0,1 Proz. schwefelsaurem Ammon keine Massenzunahme zeigte.

Bei einem zweiten Versuch ergab sich ein ähnliches Resultat.

Ein weiteres Experiment ergab, daß in der glykokollhaltigen, sonst stickstofffreien Nährlösung binnen 18 Tagen eine beträchtliche Zunahme an aktivem Albumin erfolgte. Mit Coffeinelösung zeigte sich starke Proteosomenausscheidung in Plasma und Zellsaft.

Ein vierter Versuch bei Ausschluß des elementaren Stickstoffes, zu welchem das Lösungswasser ausgekocht und dann von Luft abgeschlossen wurde, hatte ein ganz ähnliches Ergebnis.

Daß Glycocoll auch für Hefe eine Stickstoffnahrung sei, wurde durch folgenden Versuch konstatiert:

Wasser . . . . .	400 g
Glycocoll . . . . .	1 g (0,25 %)
Rohrzucker . . . . .	20 g (5 %)
Monkaliphosphat . . . . .	0,8 g (0,2 %)
Bittersalz . . . . .	0,4 g (0,1 %)
Hefe von 33,5 % Trockensubstanz .	1 g.

Nach 2tägigem Stehen bei 25° war die Hefe bereits abgesetzt, während vorher starke Trübung der Flüssigkeit durch die suspendierte Hefe stattgefunden hatte.

Die Trockensubstanz der Hefe betrug nun 0,40 g.

Die Zunahme der Trockensubstanz betrug 19,4 Proz. (B., Allg. Brau- und Hopf.-Ztg.). Wenn nicht N-Nahrung, geht die Trockensubstanz zurück, siehe Albumose-Versuch.

**Aethylendiamin**  $\text{NH}_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_4 \cdot \text{NH}_2$ .

Nach O. Loew (Centralbl. f. Bakt. 1892. No. 11/12.) ist dasselbe **un- tauglich** als Kohlenstoffquelle für Pilze.

Dasselbe wurde von diesem Forscher im Zusammenhang mit Tetramethylglykol geprüft, um die vermutete, mit der Konstitution des Moleküls verbundene Unfähigkeit zur Ernährung darzulegen:



In 0,5proz. Lösungen dieser Stoffe, versetzt mit 0,05 Proz.  $\text{PO}_4 \text{K}_2 \text{H}$  und  $\text{PO}_4 (\text{NH}_4)_2 \text{H}$  und 0,01 Proz. Magnesiumsulfat wuchsen binnen 2 Wochen **keine Bakterien**.

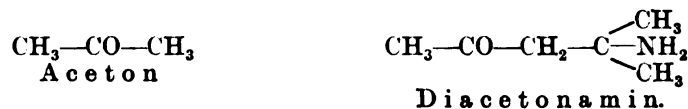
O. Loew vermutet, daß aus diesen Stoffen schwierig die zur Eiweißsynthese nötige Atomgruppe  $\text{CHOH}$  gebildet wird.

Ähnlich verhielt es sich mit dem

**Diacetonamin**  $\text{CH}_3, \text{CO} \cdot \text{CH}_2 - \text{C} (\text{CH}_3)_2 \text{NH}_2$ ,

welches ebenfalls lange Zeit keine Bakterientrübung aufkommen ließ; erst spät stellte sich (nach 2 Wochen) eine kaum bemerkbare, sehr schwache Bakterientrübung ein. Die Reaktion wurde neutral gemacht (wie auch im vorigen Versuch).

Bei dem verwandten **Aceton** war schon nach 4 Tagen Trübung zu bemerken.



Also auch hier Abnahme der Ernährungsfähigkeit mit dem Kompliziertwerden des Moleküls.

Versuche an grünen Pflanzen fehlen.

**Acetamid**  $\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$ .

E. Laurent erhielt damit **keine Hefeernährung**; ebenso wenig mit **Formamid**  $\text{HCO} \cdot \text{NH}_2$ .

Dagegen ist **Acetamid** nach Naegeli (a. a. O.) eine gute Kohlenstoffquelle für Bakterien.

Mit der Anhäufung der Methylgruppen an Stelle von Wasserstoffatomen sinkt die Ernährungsfähigkeit, wie schon bei Äthylenglykol und Tetramethylglykol zu ersehen war. Ersteres ist Pilznahrung, letzteres nicht.

Aus demselben Grunde ist auch **Methylamin** eine bessere C-Nahrung als **Trimethylamin**.



Nährlösungen, welche Methylamin  $\text{CH}_3\text{NH}_2$  als einzige Kohlenstoffquelle enthalten und neutralisiert sind, ergeben nach O. Loew bei Infektion mit dem *Bacillus methylicus* gutes Pilzwachstum.

Naegeli machte folgenden Versuch (a. a. O. p. 432):

Salzsaures Methylamin 0,5 Proz.

Mineralische Nährsalze.

Es trat eine ziemlich reichliche Spaltpilzvegetation auf. Salmiak und freie Salzsäure traten bei diesem Versuche auf. Der Versuch blieb 2 Jahre stehen!

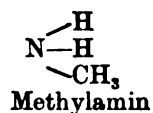
Ein Versuch ähnlicher Art, aber mit 1,25 P.-Säure, lehrte, daß Schimmel diesen Stoff nicht gebrauchen kann. Naegeli, Vers. 59.

Einen Versuch an grünen Pflanzen finde ich nicht vor. Er würde wahrscheinlich positives Resultat ergeben haben.

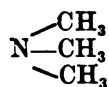
Denn sogar Trimethylamin  $(\text{CH}_3)_3\text{N}$  ergab positives Resultat an Algen.

In einer mit sehr verdünnter Schwefelsäure neutralisierten, 0,05 proz. Lösung von Trimethylamin blieben Spirogyren 3 Tage lang gesund, zeigten aber keinen Stärkeansatz. Erst nach 8 Tagen trat Stärke auf (keine Spaltpilze). B., a. a. O.

Für Bakterien kann es nach O. Loew nicht oder sehr schlecht zu Kohlenstoffnahrung dienen. L. bringt das wieder in Zusammenhang mit der Konstitution des Moleküls:



Methylamin



Trimethylamin.

Propylamin,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ .

Dasselbe ist nach E. Laurent keine Kohlenstoffnahrung für Hefe (a. a. O.).

Nach Naegeli und Loew ist es eine (schlechte) Kohlenstoffnahrung für Pilze.

Ja, nach Naegeli, können gewisse Bakterien daraus ihren Kohlenstoff- und Stickstoffbedarf zugleich decken (Naegeli, Vers. 60.):

Wasser . . . . .	200 g
Salzsaures Propylamin . . . . .	2,0 g
Dikaliumphosphat . . . . .	0,5 g
Magnesiumsulfat . . . . .	0,04 g
Calciumchlorid. . . . .	0,01 g.

Es bildete sich langsam eine Vegetation von rötlich gefärbten Spaltpilzen.

Letztere können also aus Propylamin nicht nur ihren Bedarf an Kohlenstoff, sondern auch an Stickstoff decken.

Ganz gleiche Versuche ergaben zur selben Zeit und daneben ein negatives Resultat bei Methyl- und Äthylamin. Spaltpilze konnten darin nicht aufkommen. Nur *Bacillus methylicus* kann darin wachsen (siehe oben), oder andere bei sehr langem Stehen.

Hingegen sind Methylamin und Äthylamin ebenfalls Stickstoffquellen für Pilze, wie das Propylamin.

„Der Stickstoff substituierter Ammoniake (Methyl und Äthylamin) kann von Schimmel- und Spaltpilzen leicht assimiliert werden.

Ja ein Vergleich ergab, daß salzsaures Methylamin mit Zucker ein besseres Resultat lieferte als Salmiak mit Zucker.

Sproßhefe scheint sich auch hier wieder abweichend zu verhalten. Denn in einem Versuch verhielten sich die Zunahmen bei salzsaurem Aethylamin und Salmiak nahezu wie 1:2; bei ersterem traten auffallend rasch Spaltpilze auf.“ (Naegeli, a. a. O. p. 452.)

Auch Trimethylamin kann von Pilzen als Stickstoffquelle benutzt werden.

Wegen des besonderen Interesses, welches dieses dreifach substituierte Ammoniak darbietet, da es doch zuerst  $\text{NH}_3$  liefern muß, um zur Eiweißbildung zu dienen, sei der Versuch Naegelis kurz angegeben:

Wasser . . . . .	100 g
Essigsaures Trimethylamin . . . . .	0,5 g
Zucker . . . . .	5,0 g
Dikaliumphosphat . . . . .	0,2 g
Magnesiumsulfat . . . . .	0,02 g
Calciumchlorid . . . . .	0,002 g

Eine solche Lösung wurde mit Spaltpilzen infiziert, während eine zweite, ganz gleiche noch 1 Proz. Phosphorsäure erhielt und mit Schimmelsporen besät wurde. Gleichzeitig wurden zwei Kontrollflaschen aufgestellt.

Im ersten Versuch trat bald reiche Spaltpilzvegetation ein, infolge dessen Milchsäurebildung. Nun kamen Schimmelpilze. Nach 3 Monaten war ein Schimmelrasen von 1,080 g da.

Im zweiten Versuch entwickelte sich gleich anfangs Schimmel, der binnen 2 Monaten einen Rasen von 1,167 g bildete.

Die beiden Kontrollversuche lieferten (infolge der Verunreinigung des Zuckers mit N-haltigen Stoffen) 0,042, bzw. 0,12 g Pilzvegetation.

Also hatte das Trimethylamin als Stickstoffnahrung für Bakterien und Schimmel gedient.

Oxamid,  $\text{CONH}_2 \cdot \text{CONH}_2$  ernährt nach Naegeli die Pilze nicht (a. a. O. p. 315.).

Naegeli verwendete 0,5 Proz. Oxamid und mineralische Nährsalze.

Nach zwei Jahren war die Flüssigkeit noch unverändert (bei Luftzutritt).

Asparagin,  $\text{CO}_2\text{H} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{CO}(\text{NH}_2)$ .

Daß es sich ausgezeichnet zur Kohlenstoffernährung der Pilze eignet (Naegeli, a. a. O.), hat Naegeli schon vor 40 Jahren mitgeteilt.

Bei einem meiner Versuche mit Hefe, in welchem Asparagin als C- und N-Quelle zugleich funktionierte und folgende Substanzen zugegeben wurden:

Wasser . . . . .	400 g
Asparagin . . . . .	10 g d. i. 2,5 %
Monokaliphosphat . . . . .	2 g d. i. 0,5 %
Bittersalz . . . . .	0,4 g d. i. 0,1 %
Preßhefe von 0,31 % Trockensubstanz . . . . .	1 g

ergab die Trockensubstanzbestimmung nach 2-tägigem Stehen des Versuches bei 25° 0,61 g.

Also hatte die Trockensubstanz um 96,8 Proz. zugenommen binnen 2 Tagen.

Daß das Asparagin auch grünen Pflanzen zur Nahrung dienen kann, geht schon aus der so häufigen Verwendung zur Eiweißbildung in den Zellen hervor. Das Asparagin findet sich unter den Zerfallsprodukten bei

der Eiweißwanderung und wird dann beim Wiederaufbau des Eiweißmoleküls als Nährsubstanz gebraucht.

Daß es auch Stickstoffnahrung für grüne Pflanzen sei, hat B ä b - l e r außerdem durch Ernährungsversuche an Maispflanzen gezeigt. (Landw. Vers.-Stat. Bd. 33. p. 23.)

Dieselben gedeihen besser, wenn der Stickstoff in Form von Asparagin, als wenn er in Form von Kalisalpeter dargeboten wurde.

Der Mehransatz von Stickstoff betrug 15,7 Proz., unter der Voraussetzung, daß der Stickstoffgehalt der Pflanzen bei Beginn des Versuches gleich war.

Eine Zersetzung des Asparagins durch Spaltpilze vor seiner Aufnahme durch die Pflanzen war durch die Versuchsanordnung ausgeschlossen. Denn die frisch hergestellte Asparaginlösung wurde, getrennt von den Mineralsalzen, jeden Tag einige Stunden für sich den Pflanzen dargeboten.

Asparaginsäure,  $\text{CO}_2\text{H} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CHNH}_2 \cdot \text{CO}_2\text{H}$ .

Auch sie ist eine Nahrung für Hefe. Doch wird sie von Hefe scheinbar weniger gut verwendet wie Asparagin:

Wasser . . . . .	400 g
Asparaginsäure . . . . .	1 g d. i. 0,25 %
Rohrzucker . . . . .	20 g d. i. 5 %
Dikaliphosphat (zur Neutralisation). . . . .	0,8 g d. i. 0,2 %
Bittersalz . . . . .	0,4 g d. i. 0,1 %
Hefe von 33,5 % Trockensubstanz . . . . .	1 g.

Nach 2tägigem Stehen hatte bei 25° die Hefe sichtlich abgenommen.

Die Trockensubstanzbestimmung ergab 0,52 g.

Also hatte sich die Trockensubstanz um 55,2 Proz. vermehrt binnen 3 Tagen; das macht beträchtlich weniger als bei dem Asparagin-Versuch.

Freilich war hier die Menge der Asparaginsäure eine viel geringere, als dort die des Asparagins.

Dafür war aber eine vortreffliche Kohlenstoffnahrung noch eigens zugesetzt, so daß die Asparaginsäure hauptsächlich als Stickstoffnahrung zu dienen hatte.

Daß die Asparaginsäure auch eine Kohlenstoffquelle für Algen sei, wurde zuerst von O. L o e w erkannt. (Journ. f. pr. Chem. 1887.)

Meine eigenen Versuche bestätigten dies (B., Chem.-Ztg. 18. 1894. No. 2.).

Spirogyren ergeben in 0,1proz., mit Kalkwasser neutralisierter Lösung von Asparaginsäure binnen 2 Tagen erheblichen Stärkeansatz.

Bei Versuchen mit diesem (Anwendung eines guten Pilznährstoffes) ist es sehr ratsam, die Versuchszeit kurz zu halten und bei niedriger Temperatur zu experimentieren, da sonst bald Spaltpilztrübung eintritt; die Asparaginsäure (wie auch das Asparagin, Tyrosin, Leucin etc.) ist eben auch ein sehr guter Nährstoff für Spaltpilze, die an ihm eine Kohlenstoff- und Stickstoffquelle zugleich finden.

Leucin,  $\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_3 \cdot \text{CHNH}_2 \cdot \text{CO}_2\text{H}$ .

Es ist eine gute Kohlenstoffnahrung für Bakterien. (O. L o e w, Centralbl. f. Bakt. 1892. p. 361.)

Mit Algen erhielt ich ein ebenfalls positives Resultat. Sie setzen in einer 0,2proz. Auflösung von Leucin bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß Stärke an. (B., Chem.-Ztg. 18. 1894. No. 2 etc.)

Ein Versuch mit Hefe ergab auch positives Resultat.

Wasser . . . . .	400 g
Leucin . . . . .	1 g d. i. 0,25 %
Rohrzucker . . . . .	20 g d. i. 5 %
Monokaliphosphat . . . . .	0,8 g d. i. 0,2 %
Bittersalz . . . . .	0,4 g d. i. 0,1 %
Hefe von 33,5 % Trockensubstanz. . .	1 g.

Nach 2-tägigem Stehen bei 25° hatte die Hefe deutlich zugenommen. Die Flüssigkeit war noch in Gärung, deutlich getrübt.

Nun wurde filtriert, die Hefe gesammelt, gewaschen, getrocknet.

Trockensubstanz: 0,61 g.

Also war die Trockensubstanz um 82 Proz. vermehrt worden.

Der Versuch beweist allerdings zunächst, daß das Leucin als Stickstoffnahrung für Hefe dienen könne, doch zweifle ich nicht daran, daß dasselbe auch als Kohlenstoffnahrung dienen könne und gedient habe.

**Tyrosin** (Oxyphenylalanin 1,4),  $C_6H_4 - OH - CH_2 \cdot CH(HN_2) \cdot CO_2H$ .

Daß dasselbe den Algen (Spirogyren) als Kohlenstoffquelle dienen könne, zeigte mir ein Lichtversuch unter Kohlensäureausschluß. Schon nach 2 Tagen Stärkeansatz (bei 0,1 Proz. und weniger).

Die Algen setzten Stärke an (B., Chem. Ztg. No. 2 usw.).

Ein Versuch mit Hefe, der allerdings auf Tauglichkeit des Tyrosins als Stickstoffnahrung berechnet war, ergab positives Resultat:

Wasser . . . . .	400 g
Tyrosin . . . . .	1 g d. i. 0,25 %
Rohrzucker . . . . .	20 g d. i. 5 %
Monokaliphosphat . . . . .	0,8 g d. i. 0,2 %
Bittersalz . . . . .	0,4 g d. i. 0,1 %
Hefe von 33,5 % Trockensubstanz. . .	1 g.

Nach 2 Tagen bei 25° ergab die Trockensubstanzbestimmung 0,52 g.

Also eine Zunahme von 54,4 Proz.

Vermutlich hat das Tyrosin auch als Kohlenstoffnahrung gedient. Wo soll sonst die Oxy-Phenylgruppe hingekommen sein, und die Propionsäure-Gruppe?

**Anilin**,  $C_6H_5 \cdot NH_2$ .

Dasselbe ist nur in geringem Grade schädlich für niedere Pflanzen (und Tiere).

0,1 proz. Auflösung von Anilin reagiert ganz schwach alkalisch, so daß empfindliches Lackmuspapier kaum merklich damit reagiert.

Vergleicht man 0,02 proz. Anilidlösung mit 0,02 proz. Benzollösung, so findet man, daß Benzol etwas schädlicher wirkt als Anilin.

Versuche über Ernährung der Hefe mit Anilin, welche E. Laurent anstellte, führten aber zu keinem positiven Resultat. Er erhielt keine Hefevervegetationen.

Versuche mit grünen Pflanzen sind nicht gemacht worden.

**Toluidin**,  $C_6H_4(CH_3) \cdot NH_2$ .

Dasselbe ist leicht zu lösen, wenn es mit etwas Schwefelsäure und dann mit einigen Kubikzentimetern heißen Wassers und mit kaltem Wasser verdünnt wird. Die Lösung ist dann mit Kali genau zu neutralisieren; dieselbe enthält dann Toluidinsulfat.

So stellte ich mir eine 0,1 proz. Lösung von Ortho- und Paratoluidin her; also eigentlich von den schwefelsauren Salzen.

Nach 6 stündigem Aufenthalt in den Lösungen zeigten sich bei der Para-Verbindung schon viele Algen und Tiere geschädigt oder abgestorben, bei der Orthoverbindung nicht. Nach 24 Stunden waren in ersterer Lösung alle Pflanzen (und Tiere) abgestorben; in der letzteren fanden sich noch lebende Pflanzen (und Tiere) vor, sogar nach 3 Tagen war noch nicht alles Leben erloschen. Die Paraverbindung ist also giftiger als die Ortho-Verbindung; bei ersterer ist also am wenigsten ein positives Ernährungsergebnis zu erwarten.

Ich arbeitete mit O. Toluidin weiter.

Aber auch meine Versuche mit neutralisierter, 0,1 proz. Lösung von O-Toluidin führten zu einem negativen Resultat.

Toluidin (O-) kann von Hefe nur schwer als Stickstoff-, gar nicht als Kohlenstoffquelle verwendet werden.

Dagegen scheinen Schimmelpilze (*Aspergillus*) dasselbe gut als N-Quelle verwerten zu können, weniger, aber doch ein wenig, auch als C-Quelle.

Es wurden folgende Lösungen hergestellt:

Die 0,1 proz. Lösung des Stoffes wurde (nach Neutralisation) mit etwas schwefelsaurem Ammon, Magnesiumsulfat, Monokaliphosphat und Chlorkalium versetzt.

Bei einer zweiten, ebenfalls 0,1 proz. Lösung des Toluidins wurde das Ammonsalz weggelassen, dafür aber Rohrzucker in der Menge 0,1 Proz. hinzugesetzt.

Erstere Lösung erhielt außer Toluidin keine kohlenstoffhaltige Substanz, konnte also zur Prüfung der Frage dienen, ob Toluidin für Hefepilze eine Kohlenstoffquelle sei.

Letztere Lösung enthielt, außer dem Amidstickstoff des Toluidins, keine Stickstoffquelle; es mußte sich also ergeben, ob das Toluidin eine Stickstoffquelle sei.

Bei dreiwöchentlichem Aufenthalt der beiden in mit einer Spur Preßhefe versetzten Lösungen im Brutofen zeigte sich in ersterer Versuchsflüssigkeit kein Hefenwachstum, aber eine schwache Schimmelvegetation.

Die Pilze erwiesen sich unter dem Mikroskop als verzweigte, gegliederte Fäden; sie fruktifizierten an der Oberfläche.

In der ammoniakfreien Lösung hatte sich eine starke Pilzvegetation eingestellt, welche zum größeren Teile aus Schimmelpilzen, zum kleineren aus Hefe bestand.

Mit Algen wurden keine Versuche gemacht.

Freies Toluidin in 0,1 proz. Lösung bewirkte schon binnen 2 Stunden eine Granulation im Plasma vieler Spirogyren-Zellen, und zwar die Paraverbindung stärker als die Orthoverbindung.

Nach 5 Stunden waren durch die Paraverbindung fast sämtliche Zellen getötet oder doch geschwächt, in der Auflösung der Orthoverbindung fanden sich noch ungeschädigte Zellen vor; sogar nach 2 Tagen waren noch solche aufzufinden.

Meine Versuche mit (nicht neutralisierter) 0,1 proz. Lösung von O-Toluidin führten aber zu keinem positiven Resultat.

Anisidin,  $C_6H_4O.CH_3NH_2$  (Ortho und Para).

Die Orthoverbindung bildet eine gelbliche Flüssigkeit, die Para-Verbindung große, weiße Kristalle.

Beide sind in Wasser ziemlich leicht auflöslich und verbreiten einen scharfen, gewürzhaften Geruch.

Die 0,1 proz. wässerigen Auflösungen reagieren schwach basisch auf Lackmus und erweisen sich als ziemlich unschädlich.

Nach 12 Stunden langem Aufenthalt in denselben waren die eingesetzten Mikroorganismen noch vielfach ungeschädigt; tierische Bewegung war noch bemerkbar.

Die Oogonien einer *Vaucheria* schienen durch die O-Verbindung geschädigt, durch die P-Verbindung nicht.

In letzterer waren nach 48 Stunden noch lebende Spirogyren auffindbar, freilich meist mit Granulationserscheinungen im Zellsaft; in ersterer fast nicht mehr (Granulationen waren auch hier zu sehen).

Die Paraverbindung scheint hier weniger schädlich zu sein als die Orthoverbindung.

Zu den Versuchen mit Hefe verwandte ich die unschädlichere von den beiden Isomeren, die Paraverbindung, in 0,1 proz. Auflösung.

Sie wurden in gleicher Weise angestellt, wie die bei Toluidin beschriebene.

Es ergab sich, daß das P-Anisidin eine Stickstoffquelle für *Saccharomyces* sei.

Denn die Hefe hatte sich vermehrt.

Ebenso zahlreich freilich hatten sich Spaltpilze eingestellt.

Eine Kohlenstoffquelle scheint es für Hefe nicht zu sein; denn bei dem darauf gerichteten zweiten Versuche zeigte sich keine Vermehrung der Hefe, während ein Schimmelpilz, der in ziemlich starken Räschen sich eingefunden hatte, diesen Stoff als Kohlenstoffquelle zu verwerten schien.

An grünen Pflanzen wurden mit Anisidin keine Versuche gemacht.

**Dimethyltoluidin**,  $C_6H_4(CH_3).N(CH_3)_2$ .

Die Paraverbindung ist eine gelbliche, die Orthoverbindung eine farblose Flüssigkeit.

Beide lösen sich zu 0,1 Proz. nur dann, wenn man etwas verdünnte Schwefelsäure zusetzt (sein Überschuß ist mit Kalilauge zu neutralisieren).

Die Auflösungen verbreiten einen schwachen Geruch.

Die 0,1 proz. Lösungen der Sulfate sind schädlich.

Binnen 12 Stunden waren sämtliche hereingebrachte Organismen abgetötet.

In den 0,2 proz. Lösungen blieben Tiere und Algen 24 Stunden am Leben.

Ein Unterschied zwischen den beiden Substanzen war bei dieser Verdünnung nicht zu bemerken.

Da 0,1 Proz. schon giftig wirkt, so stellte ich keine Ernährungsversuche mit Hefe an.

Vielleicht wäre mit 0,02 Proz. noch etwas zu erreichen.

Versuche mit grünen Pflanzen wurden nicht angestellt.

**Amidobenzoësäure**,  $C_6H_4NH_2COOH$ .

In einer 0,05 proz. Auflösung von Amidobenzoësäure, welche durch Auflösen von 0,1 g der Säure in etwas Alkohol und Eingießen dieser Lösung in 200 ccm Wasser hergestellt worden war, blieben *Vaucherien*, *Conferven*, *Spirogyren* und *Infusorien* 24 Stunden lang lebendig; *Cladophora* starb ab.

Selbst nach 72 Stunden waren noch viele der eingesetzten Organismen lebendig. (Benzoësäure ist giftiger; 0,1 Proz. wirkt binnen 24 Stunden tödlich, auch nach dem Neutralisieren.)

Versuche mit Hefe und Amidobenzoësäure ergaben ein negatives Resultat.

An grünen Pflanzen wurden keine Versuche gemacht.

p-Nitranilin,  $C_6H_4(NO_2).NH_2(1,4)$ .

In einer 0,1 proz. Auflösung von Paranitranilin, welcher die nötigen mineralischen Nährstoffe, aber keine weiteren organischen Substanzen zugesetzt waren, wuchs *Saccharomyces* nicht.

Die Spur Hefe, welche Anfangs zugesetzt worden war, hatte sich binnen einer Zeit von 3 Wochen bei 27° kaum vermehrt.

Das Nitranilin kann also als nicht als Kohlenstoffquelle für Hefe dienen, aber anscheinend auch nicht für andere Pilze; denn es zeigte sich bei diesem Versuch keinerlei Pilzvegetation, wiewohl andere Pilze auch Zutritt hatten.

Hingegen ist das Nitranilin eine gute Stickstoffquelle für Hefe wie auch für Schimmelpilze.

Bei einem zweiten, gleichzeitig aufgestellten Versuch mit 0,1 proz. Lösung des Nitranilins, welche keine Stickstoffquelle, außer dem Nitranilin selbst, sonst aber alle nötigen Stoffe enthielt, stellte sich eine mächtige Pilzvegetation binnen 3 Wochen ein.

Es hatte sich die Hefe stark vermehrt; ein Schimmelpilz hatte sich außerdem angesetzt, dessen Fäden einen dichten Rasen bildeten und an der Oberfläche der Flüssigkeit zahlreiche Sporen abschnürten.

Über grüne Pflanzen liegen keine Versuche vor.

Ferrocyankalium,  $K_4Fe(CN)_6 + 309$ .

Aus Cyanverbindungen vermögen Pilze nach Naegeli und Loew (a. a. O. p. 401) den Kohlenstoff nicht zu assimilieren.

Bei einem das Cyan betreffenden Versuch diente folgende Nährlösung:

Wasser . . . . .	500 g
Zucker. . . . .	15 g
Ferrocyankalium . . . .	3 g
Dikaliumphosphat . . . .	0,50 g
Magnesiumsulfat . . . . .	0,16 g
Calciumchlorid . . . . .	0,04 g.

Ausgesäte Schimmelsporen kamen hier nicht zur Entwicklung.

Dagegen stellte sich bald eine Spaltpilzvegetation ein und infolgedessen Milchsäurebildung.

Allmählich trat ein schwacher Blausäuregeruch auf.

Das Neßlersche Reagens deutete die Bildung von Ammoniak an, und am Boden zeigte sich ein schwach blaufärbter Niederschlag.

Offenbar hatte die gebildete Milchsäure Ferrocyanwasserstoffsäure in Freiheit gesetzt, welche leicht zersetzlich ist.

Bei rascherer Zersetzung der hierbei auftretenden Blausäure würde eine hinreichende Menge Ameisensäure entstanden sein und die weitere Pilzvegetation ganz aufheben.

Spaltpilze vermögen also mittels Milchsäurebildung, das Ferrocyankalium zu spalten.

Ihre Vermehrung ist aber nach Naegeli und Loew auf den Zucker und dann auf die aus dem Zucker stammende Milchsäurebildung zurückzuführen.

Freilich der Stickstoff mußte aus dem Ferrocyankalium stammen, wenn nicht die Stickstoffverunreinigungen des Zuckers den Stickstoff geliefert hätten.

Der auftretende Blausäuregeruch freilich macht das letztere wahrscheinlich, da die Blausäure als solche in dem Gemische verblieb.

Ebensowenig wie Schimmel, vermag sich Sproßhefe in Ferrocyankaliumlösungen zu entwickeln.

Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt:

Wasser . . . . .	500 g
Zucker. . . . .	10 g
Ferrocyankalium . . . . .	1 g
Dikaliumphosphat . . . . .	1,0 g
Magnesiumsulfat . . . . .	0,026 g
Calciumchlorid . . . . .	0,006 g.

Die gärende Mischung wurde bei 30° mit einem Luftstrom behandelt, allein die Zunahme der Hefe war nur unbedeutend; gleichzeitig hatten sich Spaltpilze gebildet und etwas Berlinerblau abgeschieden.

Die Spaltpilze waren vermutlich wiederum durch den Zucker und seine stickstoffhaltigen Verunreinigungen entstanden.

Blausäure und Cyankali sind wohl zu giftig, als daß davon eine ernährende Wirkung zu erwarten wäre.

Hingegen ist Ferrocyankalium ein auffallend schwaches Gift.

Lösungen des gelben Blutlaugensalzes in Quellwasser schädigen bei 0,01 Proz. Verdünnung Fadenalgen und Diatomeen nicht, wohl aber bei 0,5 Proz. (O. Loew). Nach Knop wirkt eine 0,05 proz. Lösung schädlich auf Mais, nach O. Loew auf Buchweizen.

Schwefelcyankalium (Rhodankalium) ist ebenfalls nur schwach giftig, ebenso auch cyansaures Kali; beide dienen aber den Pilzen nicht als Kohlenstoffnahrung. (B., Pflüg. Arch. Bd. 66 und Chem. Ztg. 1896. No. 9.)

Dicyan, CN.CN.

Es ist sehr giftig.

Über die Giftwirkung des Dicyans (verglichen mit der von Blausäure) hat O. Loew (Forsch. Ber. über Lebensmittel. Jahrg. 1. Heft 7) Mitteilung gemacht.

Darnach verhindert Dicyan in der Konzentration 1:5000 die Bakterienentwicklung, nicht aber Blausäure von 1:5000 (bei 1:1000 wirkt auch Blausäure tödlich).

Auch bei Bierhefe ist Dicyan ein entschieden stärkeres Gift als Cyanwasserstoff.

Denn ersteres führt bei einer Verdünnung 1:5000 binnen 24 Stunden ungefähr dieselbe Schädigung für Bierhefe herbei, wie Blausäure in der Verdünnung 1:400.

Werden Fäden von *Spirogyra communis* mit einer Lösung von 0,39 Proz. Dicyan betupft, so gewahrt man unter dem Mikroskop sofortige Kontraktion und Trübung des Plasmaschlauches.

In Lösungen von Dicyan, resp. Cyanwasserstoff von 1:1000 sah man bei der gleichen Algenart nach 30 Minuten noch keinen schädlichen Einfluß; nach 4 Stunden waren jedoch bei Dicyan die meisten, bei Cyanwasserstoff eine große Anzahl von Zellen tot; nach 15 Stunden waren alle Zellen in beiden Fällen abgestorben.



Selbst Lösungen von 1 : 10 000 äußerten noch einen schädlichen Einfluß, welcher bei Dicyan jedoch weit bedeutender war als bei Cyanwasserstoff.

In Lösungen von Dicyan 1 : 100 000 führten Oscillarien noch nach 48 Stunden ihre Bewegungen aus und Spirogyren waren nicht verändert. In Blausäurelösung von derselben Verdünnung konnte man nach dieser Zeit auch noch lebende Diatomeen erkennen.

Für Phanerogamen, wie Gerste, Erbse, Rübe, Rettig, ist sowohl Dicyan als Blausäure ein starkes Gift.

Unter solchen Umständen ist vom Dicyan in bezug auf Nährkraft weder für Pilze, noch für grüne Pflanzen etwas zu erhoffen.

Kreatin,  $\text{NH}_2 \cdot \text{NH} \cdot \text{C} \cdot \text{N}(\text{CH}_3) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2\text{H}$ .

Diese Fleischbase kann nach O. Loew von Bakterien als Kohlenstoffquelle verwendet werden. (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1892.)

Wohl zweifellos ist sie auch eine Stickstoffquelle für Pilze.

Spirogyren vermögen bei Lichtzufuhr und Kohlensäureausschluß aus Kreatin Stärke zu bilden (B., Chem. Ztg. 1894. No. 2).

Allantoin dient Bakterien als Kohlenstoffnahrung. (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1892. No. 11/12.)

Grüne Pflanzen wurden nicht geprüft.

Hydantoin. Auch dieser Stoff ist eine Kohlenstoffnahrung für Bakterien; Spirogyren setzen bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß in Hydantoinlösungen (0,2—0,05 Proz.) Stärke an (B., Chem. Ztg. 1894. No. 2).

Urethan ist eine Kohlenstoffnahrung für Spirogyren. (B., Chem. Ctg. 1892. No. 2).

Hinsichtlich letzterer Stoffe ist eine Studie einschlägig, welche O. Loew und Verf. im Journ. f. pr. Chem. Bd. 36 publizierten:

„Der schädliche Einfluß nimmt zu, wenn in einer Substanz durch Eintritt stickstoffhaltiger Gruppen die Alkalizität zunimmt.“

Darum kränkeln Algen in Harnstofflösung (0,1 Proz.) binnen einigen Tagen, in Guanidin sterben sie ab; bei Urethan nehmen sie nach Wochen nicht den geringsten Schaden.

„Treten in die Moleküle des Harnstoffes oder Guanidins Säuregruppen ein, die den alkalischen Charakter abschwächen, so verschwindet auch wieder die schädliche Wirkung, wie Versuche mit Hydantoin und Kreatin lehren.“

Die Algen in 0,2 Proz. Kreatin und Hydantoin nehmen bedeutend an Masse zu.

Genaueres hierüber wolle in den Schlußbemerkungen nachgesehen werden.

Von sonstigen stickstoffhaltigen, organischen Stoffen seien nur noch kurz das

Pyridin  
Chinin  
Strychnin  
Chinolin

erwähnt. Sie sind, wie zu erwarten, keine Nährstoffe für Pilze und Algen, da sie zu giftig sind.

Nur das Strychnin ist, als 0,5 proz. Strychninsulfatlösung angewendet, eine sehr schlechte Kohlenstoffquelle für Pilze (Naegeli und Loew, a. a. O.).

Die Fäulnisprodukte Indol, Skatol können ebenfalls wegen Giftigkeit nicht zur Ernährung verwendet werden.

**Pikrinsäure**,  $C_6H_2(OH)(NO_2)_3$ , als freie Pikrinsäure oder als pikrinsaures Kali geboten, dient Pilzen nicht zur Nahrung (Loew, B., J. pr. Ch. 1887). Sie hat giftige Wirkung auf Pilze, noch mehr auf Algen. Folgende Lösungen wurden aufgestellt:

- |                            |        |
|----------------------------|--------|
| a) Pikrinsäure . . . . .   | 0,5 %  |
| Calciumnitrat . . . . .    | 0,02 % |
| Monokaliphosphat . . . . . | 0,02 % |
| Magnesiumsulfat . . . . .  | 0,02 % |
| b) Pikrinsäure . . . . .   | 0,1 %  |
| Calciumnitrat . . . . .    | 0,02 % |
| Monokaliphosphat . . . . . | 0,02 % |
| Magnesiumsulfat . . . . .  | 0,02 % |
| c) Pikrinsäure . . . . .   | 0,05 % |
| sonst wie a und b          |        |
| d) Pikrinsäure . . . . .   | 0,01 % |
| sonst wie vorhin.          |        |

Mit einer kleinen Menge Fäulnisschlamm (mit Pilzen, Algen, Amöben, Infusorien) wurden die Lösungen infiziert.

Nach 12 Tagen waren a) und b) völlig steril.

In 0,05 Proz. waren nach 12 Tagen am Grunde einige Räschen von Fadenpilzen zu bemerken, welche nicht weiter bestimmt wurden.

Sie waren vermutlich auf Kosten einiger in dem Fäulnisschlamm enthaltenen, nun abgestorbenen Algen, Infusorien und Amöben gewachsen.

Immerhin wird dadurch bewiesen, daß 0,05 Proz. das Wachstum der Pilze nicht völlig verhindert.

0,01 Proz. freie Pikrinsäure beließ sämtliche eingebrachte Organismen am Leben, nur die Spirogyren waren größtenteils abgestorben.

Um das Verhalten der freien Pikrinsäure gegen Sproßpilze zu erproben, wurden die gleichen Lösungen wie vorhin nochmal hergestellt, aber diesmal unter Zusatz von je 10 Proz. Rohrzucker und einer kleinen Menge schwefelsaurem Ammonium.

Zu jeder Probe wurde ferner etwas Preßhefe hinzugebracht, so daß eine ganz schwache Trübung der Flüssigkeit entstand.

Nach 2 Tagen zeigte sich bei der 0,01 Proz. Pikrinsäure enthaltenden Lösung eine Pilzvegetation am Grunde des Gefäßes, nach weiteren 2 Tagen auch in den Lösungen mit 0,05 und 0,1 Proz.; nur die 0,2 proz. Lösung von Pikrinsäure war frei von Pilz-Vegetation.

Jene bestand aus Fadenpilzen von der Dicke der Bierhefezellen; sie schienen aus diesen hervorgegangen zu sein.

Gärung war nicht eingetreten.

Es scheint, daß die freie Pikrinsäure die Gärung verhinderte.

Pikrinsaures Kalium und namentlich pikrinsaures Ammonium erwiesen sich als recht giftig für niedere Organismen jeder Art.

Schon in 0,1 proz. Lösung wirkt pikrinsaures Kalium schädlich auf Spirogyren, Diatomeen und andere Algen usw. In 0,20 proz. Lösung freilich war sogar nach 24 Stunden alles ziemlich intakt.

Pikrinsaures Ammonium 0,1 Proz. tötet binnen 12 Stunden jene Organismen.

Alles in allem genommen, machten mir die Pikrinsäure-Versuche nicht den Eindruck, als ob die Pikrinsäure den Pilzen und Algen als Nährsubstanz dienen könnte.

Nitrobenzoësäure,  $C_6H_4 \cdot NO_2 \cdot CO_2H(O)$   
neutralisiert mit Kali, damit als nitrobenzoësaures Kalium angewandt, ist kein so starkes Gift für Algen und andere niedere Organismen (für höhere Pflanzen ist es nach Knop stärker giftig).

Ernährungsversuche wurden damit nicht angestellt.

Erwähnt sei nur noch, daß O. Loew die Schlußfolgerung gezogen hat, daß die Nitrogruppe in ihrer giftigen Wirkung abgeschwächt wird, wenn die Carboxyl- oder die Sulfogruppe (eine stark negative Gruppe) in das Molekül eintritt.

Ernährungsversuche mit nitrobenzoësaurem Kalium wären somit nicht ganz aussichtslos.

Nitrobenzol und Nitrophenol sind ja ziemlich stark giftig.

### Allgemeines über die Nährkraft stickstoffhaltiger organischer Stoffe.

Hier müssen zweierlei Dinge ins Auge gefaßt werden:

Die Nährkraft als Kohlenstoffquelle und die als Stickstoffquelle.

Als Kohlenstoffquellen wurden erkannt (bzw. Stickstoffquellen):

Harnstoff, schlechte C-Quelle für Pilze	Stärkebildend bei Algen	Stickstoffnahrung für Hefe, Schimmel, Bakterien, Algen
Glykokoll, C-Quelle für Schimmel	C-Quelle für Algen	N-Quelle für Hefe, Spirogyren
Methylamin, C-Quelle für manche Bakterien	Versuche mit Algen liegen nicht vor	N-Quelle für Pilze
Trimethylamin, keine oder sehr schlechte C-Quelle für Bakterien	C-Quelle für Spirogyren	N-Quelle für Pilze
Propylamin, schlechte C-Quelle für Bakterien, keine für Hefe	.	N-Quelle für Bakterien
Äthylamin, keine C-Quelle für Bakterien		N-Quelle für Bakterien und Hefe
Asparagin, ausgezeichnete Kohlenstoffnahrung für Pilze	Versuche mit Algen wurden nicht gemacht	N-Nahrung für Pilze u. grüne Pflanzen
Asparaginsäure, gute C-Nahrung für Pilze	Spirogyren setzen reichlich Stärke an	
Leucin, gute C-Quelle für Bakterien und Hefe	C-Nahrung für Spirogyren	
Tyrosin, gute C-Quelle für Hefe, aber doch weniger als Leucin	C-Nahrung für Spirogyren	
Toluidin, schlechte C-Nahrung für Schimmel		Schlechte N-Quelle für Hefe, bessere für Schimmel
Anisidin, C-Quelle für manche Schimmelpilze		N-Quelle für Hefe
Nitroanilin, keine C-Quelle für Hefe		Gute N-Quelle für Hefe und Schimmel
Kreatin, C-Quelle für Bakterien	C-Nahrung für Spirogyren	
Hydantoin, C-Quelle für Bakterien	C-Quelle für Spirogyren	
Allantoin, C-Quelle für Bakterien	Grüne Pflanzen wurden nicht geprüft	
Strychnin, sehr schlechte C-Quelle für Schimmelpilze		
Acetamid, gute C-Quelle für Bakterien, nicht für Hefe		

Hier interessiert besonders die Übereinstimmung zwischen Pilzen und Algen, soweit letztere geprüft wurden.

Nach den bisherigen Ergebnissen ist anzunehmen, daß, wo ein positives Resultat bei Pilzen erzielt wurde, ein solches auch bei Versuchen mit Algen sich ergeben würde.

Bemerkenswert ist noch, daß der Harnstoff, der bei Pilzen nur schwierig als C-Quelle verwendet wird, von Algen ohne weiteres als solche gebraucht werden kann.

Was die Stickstoffquellen anlangt, so kommen als solche fast durchweg die Amido-Verbindungen, welche die Atomgruppe  $\text{NH}_2$  enthalten, in Betracht.

Doch ist zu bemerken, daß auch manche Nitro-Verbindungen, wie Nitroanilin, N-Quellen sind.

Die stickstoffhaltigen organischen Stoffe, welche bis jetzt erwähnt wurden, führen uns hinüber zu den dem Protoplasma am nächsten stehenden Nährstoffen, den Proteinstoffen.

Sie sind naturgemäß die besten Nährstoffe, soweit sie in die Zellen eindringen, was freilich bei vielen nicht der Fall ist.

Es muß bei den genuinen Proteinstoffen stets eine Umwandlung in diffundierbare Stoffe vorausgehen, damit sie zur Ernährung tauglich sind.

Solche Stoffe entstehen sowohl bei der peptischen, als auch bei der tryptischen Eiweißspaltung.

Es fragt sich aber immer, ob entsprechende Fermente vorhanden sind.

#### Proteinstoffe:

Auf die Schwierigkeit der genuinen Eiweißstoffe auf Nährfähigkeit zu prüfen, hat schon Naegeli (a. a. O. p. 412) aufmerksam gemacht.

„Die ungleiche Fähigkeit zu definieren macht sich besonders fühlbar beim Zusammenhalt der Albuminat- und der ihnen nahestehenden Stoffe mit den kristallisierenden Substanzen.

Die Pilzzellen müssen die Albuminate, um sie aufzunehmen, zuerst in eine diosmierende Form verwandeln.“

Von Peptonen gibt es bekanntlich verschiedene Modifikationen, solche die den Albuminaten näher stehen und weniger gut diosmieren, und solche, die mehr verändert sind und besser durch Membranen hindurchgehen.“

„Wenn es sich also um Vergleichung von Albuminaten mit andern Nährsubstanzen handelt, so ist es zu berücksichtigen, welche Wahrscheinlichkeit zur Peptonisierung unter den vorliegenden Umständen geboten sei, und wenn Peptone verglichen werden sollen, welche Beschaffenheit und besonders welche Fähigkeit zu diosmieren sie besitzen.“

Demgemäß wird man bei Proteinstoffen vorsichtig im Urteil sein müssen.

An sich müssen ja in den Proteinstoffen die vorzüglichsten Nährstoffe vermutet werden.

Sie sind es auch, wenn sie eindringen (event. in Pepton verwandelt wurden durch Enzyme).

Im übrigen gibt es natürlich auch spezifische Unterschiede.

Nach Beijerinck (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1893) soll *Bacillus perlibratus* Amide den Peptonen vorziehen (als Stickstoffnahrung).

Im allgemeinen aber dürften sogar „Amidbakterien“ bei Zufuhr von Pepton recht gut gedeihen, ebensogut oder sogar noch besser als bei Amid-Ernährung.

Den *Bacillus cyaneo-fuscus* bezeichnet Beijerinck (Bot. Zeitg. Bd. 49. 1891) als „Peptonbacillus.“

Auch viele Parasiten werden zu den „Peptonpilzen“ gerechnet.

Viele Pilze entwickeln sich gut, wenn man ihnen Pepton als einzige Kohlenstoff- und Stickstoffquelle darbietet.

Manche, wie *B. Pflügeri*, *B. phosphorens*, *B. Fischeri*, sollen dazu noch Zucker benötigen (Beijerinck).

Nach Beijerinck (Botan. Zeitg. 1891) wächst *B. cyanogenus* als Peptonbacillus, bedarf aber zur Farbstoffbildung noch einer besonderen Kohlenstoffquelle.

Man muß auch hier (wie bei den Amidokörpern) unterscheiden zwischen Verwendung als C- und als N-Quelle. Die obige Bezeichnung „Peptonpilze“ wurde von Beijerinck auf N-Ernährung bezogen.

In vielen Fällen wird Pepton wohl in beider Beziehung sich vortrefflich eignen.

Früher glaubte man, der Autorität Liebig's folgend, daß bloß eiweißartige Stoffe den Pilzen als Nahrung dienen können.

Demgegenüber hat Pasteur schon vor längerer Zeit gezeigt, daß die Sproßhefepilze durch weinsaures Ammoniak und Zucker, *Penicillium*-Arten durch weinsaures Ammoniak allein, ernährt werden können.

Inzwischen ist diese damals viel widersprochene Erkenntnis durch zahlreiche anderweitige Beobachtungen über die Ernährung der Pilze durch Kohlenstoff und Stickstoffverbindungen erweitert worden.

Daß Pepton (gewöhnliches Fleischpepton) auch den grünen Pflanzen zur C-Nahrung dienen könne, zeigte mir ein Versuch mit *Spirogyren*, welche in Peptonlösungen (0,2—0,05 Proz.) bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß bald Stärke ansetzten.

Der Ernährung von Blütenpflanzen, mit Pepton an Wasserkulturen oder Topfpflanzen ausgeführt, stellte sich immer die rasch eintretende Fäulnis und die darauf folgende Giftwirkung mancher Fäulnisprodukte hinderlich in den Weg.

Bei den nur 2 Tage dauernden *Spirogyra*-Versuchen konnte ich durch ziemlich niedere Temperatur entgegenarbeiten. Nach 4 Tagen freilich stellten sich trotzdem Spaltpilze ein.

Die Stärkebildung aber war schon nach 2 Tagen aufgetreten. (B., Chem.-Ztg. 1894. No. 2.)

### Zusammenfassung.

Gesetzmäßige Beziehungen zwischen Nährkraft und chemischer Konstitution:

Die organische Nahrung der Pilze, wie auch der grünen Pflanzen, ist sehr mannigfaltig.

Eine Beziehung zur chemischen Konstitution herauszufinden, ist schon seit Naegeli ein lebhafter Wunsch der Chemiker und Physiologen gewesen.

Wie weit es gelungen ist, eine Gesetzmäßigkeit hierin zu finden, geht zum Teil schon aus anderen Teilen dieser Abhandlung hervor.

Hier sei nur noch wenig darüber gesagt:

Es gibt kaum ein interessanteres physiologisches Thema als dieses.

Denn hier ergibt sich die Hoffnung, mit den Mitteln, welche uns die

## Amidokörper und sonstige stickstoffhaltige organische Stoffe:

Name und Formel der Substanz	Nährkraft bei Pilzen	Nährkraft bei Algen und höheren grünen Pflanzen	Bemerkungen
Harnstoff $\text{NH}_4\text{CO.NH}_2$	Schlechte Kohlenstoffnahrung für Bakterien. Hefe kann ihn nicht als C-Quelle verwenden. Stickstoffnahrung für Hefe, Schimmelpilze und Spaltpilze.	Spirogyren setzen in 0,05-proz. Lösung Stärke an. In 0,1 % kränkeln sie. Wahrscheinlich auch Stickstoffnahrung für Algen.	
Glykokoll $\text{CH}_3\text{.NH}_2\text{.CO}_2\text{H}$	Dient als Kohlenstoffquelle für Schimmelpilze. Stickstoffnahrung für Hefe.	Kohlenstoffnahrung für Spirogyren. Stickstoffnahrung für <i>Spirogyra nitida</i> .	
Äthylendiamin $\text{NH}_2\text{.C}_2\text{H}_4\text{.NH}_2$	Keine Kohlenstoffnahrung für Pilze.		
Diacetonamin $\text{CH}_3\text{.CO.CH}_3\text{—C(CH}_3)_2\text{NH}_2$	Kaum eine Nahrung für Bakterien.		
Acetamid $\text{CH}_3\text{.CO.NH}_2$	Keine Nahrung für Hefe. Gute C-Quelle für Bakterien.		
Formamid $\text{HCO.NH}_2$	Keine Kohlenstoffquelle für Hefe.		
Methylamin $\text{CH}_3\text{.NH}_2$	<i>Bacillus methylicus</i> aber wächst gut in (mit Salzsäure) neutralisierten 0,5-proz. Lösungen. Andere Bakterien nicht. Gute Stickstoffnahrung für Pilze.	Es liegen keine Versuche vor (würden wahrscheinlich positiv ausfallen).	Naegeli, a. a. O. p. 432. O. Loew.
Trimethylamin $\text{N(CH}_3)_3$	Für Bakterien ist es (neutralisiert) keine oder eine sehr schlechte Kohlenstoffnahrung. Stickstoffnahrung für Pilze (Bakterien und Schimmel).	Spirogyren werden ernährt (Lösung 0,05 % mit Schwefelsäure neutralisiert).	B., Chem. Ztg. 1892. No. 11/12. Naegeli, a. a. O.
Propylamin $\text{CH}_3\text{.CH}_2\text{.CH}_2\text{.NH}_2$	(Schlechte) Kohlenstoff- und (gute) Stickstoffnahrung für gewisse Bakterien. Keine C-Nahrung für Hefe.		Naegeli, a. a. O. Vers. 60.

Äthylamin $\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2$	Keine Kohlenstoffnahrung für Spaltpilze, wohl aber Stickstoffnahrung für dieselben, wie auch für Hefe.		Naegeli, a. a. O. p. 452.
Diamid $\text{NH}_2 \cdot \text{NH}_2$	Giftig für Spaltpilze. Ganz untaugliche Stickstoffquelle (O. Loew). Dasselbe wurde als Diamidsulfat angewandt.	Giftig für Algen (B., Pringsh. Jahrb. 19. p. 214).	Energische Wirkung auf Aldehyde nach O. Loew, Biol. Centralbl. Bd. 10. p. 580.
Ammoniak $\text{NH}_3$	Bekanntlich gute Stickstoffnahrung für Pilze.		
Alanin, $\alpha$ -Amidopropionsäure $\text{CH}_3 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{CO}_2\text{H}$	Penicillium glaucum wächst nach E. Fischer schwach in Alaninlösungen (2%), besser Aspergillus niger (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 32. 1899); Rechtsalanin wird stärker verzehrt.		
Oxamid $\text{CONH}_2 \cdot \text{CONH}_2$	Ernährt nach Naegeli die Pilze nicht.		
Dioyan	Zu giftig, um als Nahrung zu dienen.	Zu giftig.	Dioyan und Blausäure gehören nach O. Loew zu den allgemeinen Giften.
Asparagin $\text{CO}_2\text{H} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{CO}(\text{NH}_2)$	Ausgezeichnete Kohlenstoff- u. zugleich Stickstoffnahrung für Pilze (Naegeli).	Gute Stickstoffnahrung (vermutlich auch Kohlenstoffnahrung) für grüne Pflanzen (Bäbeler).	Schon aus dem Auftreten und Wiederverschwinden des Asparagins in grünen Pflanzen geht hervor, daß es ein Nährstoff ist.
Asparaginsäure $\text{CO}_2\text{H} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CHNH}_2 \cdot \text{CO}_2\text{H}$	Gute C-Nahrung für Pilze.	Spirogyren setzen in 0,1-proz., mit Kalkwasser neutralisierter Lösung binnen 2 Tagen reichlich Stärke an (bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß).	
Leucin $\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_2 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{CO}_2\text{H}$	Gute Kohlenstoffnahrung für Bakterien (O. Loew). Für Hefe ebenfalls gute Nahrung.	Spirogyren setzen in 0,2-proz. Lösung bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß binnen 2 Tagen Stärke an.	
Tyrosin, Oxyphenylalanin $\text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{CO}_2\text{H}$	Gute C-Nahrung für Hefe, aber etwas weniger als Leucin.	Spirogyren setzen in Tyrosinlösung bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß Stärke an.	

Name und chemische Formel der Substanz	Nährkraft bei Pilzen	Nährkraft bei grünen Pflanzen	Bemerkungen
Anilin $C_6H_5 \cdot NH_2$	Für Hefe keine Nahrung (E. Laurent). (Vielleicht Stickstoffnahrung?)	Versuche mit grünen Pflanzen sind nicht gemacht worden.	
Toluidin $C_6H_4 \cdot CH_3 \cdot NH_2$	Toluidin wird von Hefe nur schwer als Stickstoff-, gar nicht als Kohlenstoffnahrung verwendet. Schimmelpilze verwenden es als Stickstoff-, nur wenig als Kohlenstoffnahrung. Paratoluidin ist zu giftig.	Mit grünen Pflanzen wurden keine Ernährungsversuche gemacht.	
Anisidin $C_6H_4 \cdot \begin{smallmatrix} O \cdot CH_3 \\ \diagdown \\ NH_2 \end{smallmatrix}$	Die Ortho-Verbindung ist für Mikroorganismen weniger schädlich als die Para-Verbindung. Versuche mit 0,1-proz. Lösung des p-Anisidins ergaben, daß dasselbe eine Stickstoffquelle für Hefe sei, aber keine Kohlenstoffquelle. Hingegen scheinen gewisse Schimmelpilze das Anisidin als Kohlenstoffquelle verwenden zu können.	An grünen Pflanzen wurden keine Versuche gemacht.	
Lecithin $C_3H_5 \cdot \begin{smallmatrix} O \cdot C_{18}H_{35}O \\ \diagdown \\ O \cdot C_{16}H_{31}O \end{smallmatrix}$ $CH_2 \cdot CH_2 \cdot N \cdot (CH_3)_3 \cdot OH$		Wird von Pflanzen assimiliert.	J. Stoklasa, Ak. d. Wiss. Wien. 20. Juni 1895.
Dimethyl-Toluidin $C_8H_4(CH_3) \cdot N(CH_3)_2$	0,1 % wirkt giftig auf Hefe. Vielleicht wirkt 0,02 % ernährend.	Versuche mit grünen Pflanzen wurden nicht angestellt.	
Amidobenzoësäure $C_6H_4 \cdot \begin{smallmatrix} NH_2 \\ \diagdown \\ CO_2H \end{smallmatrix}$	Versuche mit Hefe ergaben ein negatives Resultat. (Vielleicht Stickstoffnahrung?)	An grünen Pflanzen wurden keine Versuche gemacht.	
p-Nitroanilin $C_6H_4NO_2 \cdot NH_2$ (1,4)	Keine Kohlenstoffnahrung für Hefe. Gute Stickstoffnahrung für Hefe u. Schimmel.	An grünen Pflanzen wurden keine Versuche gemacht.	
Ferrocyanalkalium $K_4Fe(CN)_6 + 3 aq$	Kein Nährstoff für Pilze (Naegeli u. Lowew).	Versuche fehlen.	Spaltpilze zerlegen das Ferrocyanalkalium mittels der aus Zucker gebildeten Milchsäure. Die durch die Spaltung entstandene Blausäure wird aber nicht assimiliert.



Cyanhydrin des Methylens $\text{CH}_2 \begin{smallmatrix} \text{OH} \\ \diagup \text{CN} \end{smallmatrix}$			Spirogyren erleiden Störungen d. Chlorophyllbandes in 0,01 bis 1%. (L. u. B., Journ. f. pr. Chem. 1887.)	
Rhodankalium SCNK	Keine Kohlenstoffnahrung für Pilze. (B., Chem. Ztg. 1896. No. 9.)			
Cyansäure (neutralisiert) ( $\text{N} = \text{C}-\text{OH}$ ) <sub>3</sub>	Keine Kohlenstoffnahrung für Pilze. (B., Chem. Ztg. 1896. No. 9.)			
Kreatin	Kann nach O. Loew von Bakterien als Kohlenstoffnahrung verwendet werden. (Centralbl. f. Bakt. 1892.)		Spirogyren setzen in 0,2—0,05-proz. Lösungen bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß Stärke an. (B., Chem. Ztg. 1896. No. 2.)	
Hydantoin	Ist Kohlenstoffnahrung für Bakterien. (O. Loew, Centralbl. f. Bakt. 1892.)		Spirogyren bilden daraus Stärke. (B., a. O.)	
Allantoin	Dient für Bakterien als Kohlenstoffnahrung (O. Loew).		Grüne Pflanzen wurden nicht geprüft.	
Urethan			Spirogyren setzen in 0,2—0,05-proz. Lösung bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß Stärke an. (B., a. O.)	
Pyridin (-salze)	Pilze verhungern. (Loew u. Bokorny, Journ. f. pr. Chem. 1887.)			
Chinin (-sulfat)	0,5% ist keine Kohlenstoffquelle für Pilze. (Naegeli u. Loew, a. a. O. p. 339.)			
Strychnin (-sulfat)	0,5 % ist sehr schlechte C-Quelle für Schimmelpilze. (Naegeli u. Loew, a. a. O.)			Nikotin soll für manche Pilze eine gute Stickstoffquelle sein. (Behrens, Zapf.)
Chinolin	Keine C-Quelle für Hefe. (Donath, Ber. d. Chem. Ges. 1892.)			
Indol u. Skatol	Sehr giftig, keine C-Quellen.			
Pikrinsäure	Dient Pilzen nicht zur Nahrung.			Loew u. B., Journ. f. pr. Chem. 1887.
Nitranilsaures Kali	Dient Pilzen nicht zur Nahrung.			

Zweite Abf. Bd. 47.

23

moderne Naturwissenschaft, speziell die Chemie, an die Hand gibt, in das Innerste des Lebensgeheimnisses einzudringen.

Freilich ist es nicht möglich, alles zu erklären.

Einige Erkenntnis läßt sich aber erreichen. Der Fortschritt ist unverkennbar.

O. L o e w läßt sich hierüber folgendermaßen vernehmen (Die chem. Verhältnisse des Bakterienlebens, Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1891.):

„Was die nährenden Stoffe betrifft, so lassen sich mit Bezug auf die Förderung des Pilzwachstums folgende allgemeine Gesichtspunkte aufstellen:

1. Hydroxylierte Säuren sind besser als die entsprechenden nicht hydroxylierten, z. B. Milchsäure besser als Propionsäure.

2. Mehrwertige Alkohole sind besser als die entsprechenden einwertigen, z. B. Glyzerin besser als Propylalkohol.

3. Der Nährwert der Fettsäuren und der einwertigen Alkohole der Fettreihe nimmt mit steigender Anzahl der Kohlenstoffatome ab; z. B. Essigsäure ist besser als Buttersäure (N a e g e l i, S t u t z e r) und Methylalkohol besser als Amylalkohol (B r o w n, Versuche mit *Bacterium aceti*, Chem. Soc. Journ. März 1886).

Eintritt von Aldehyd- oder Ketongruppen erhöhen die Nährfähigkeit, z. B. Glucose oder Fructose sind besser als Mannit, Acetessigester ist besser als Essigester.“

„Von hohem Interesse für die Bakteriologie müßte es sein, vergleichende Studien über die Nährfähigkeit verschiedener Substanzen noch weiter auszudehnen.

L. u. Verf. haben bei Versuchen, Algen organisch zu ernähren, beobachtet, daß Hydantoin und Kreatin bei Spirogyren günstiger wirken als Leucin oder Urethan, was wir auf eine gewisse Labilität der in jenen Verbindungen enthaltenen  $\text{CH}_2$ -Gruppe zurückführen.

Es dürfte sich im allgemeinen bestätigen, daß an Stickstoff methylierte Basen besser sind, als die entsprechenden nichtmethylierten (O. L o e w ; Pflüg. Arch. 40. p. 442.).

Man sollte z. B. vergleichen Glykokoll mit Sarkosin, Glycocyamin mit Kreatin.“

Stickstoffquellen für Pilze sind nicht nur Ammoniaksalze und Nitrate, sondern auch Amidosäuren, Säureamide, Amine, wahrscheinlich auch Nitrite und manche Nitroso- und Nitroverbindungen.

Azo- und Diazoverbindungen sind ebensowenig geprüft, wie Hydrazo- und Azoxy.-Verbindungen. (Stickstoffwasserstoffsäure hofft O. L. bald prüfen zu können.)

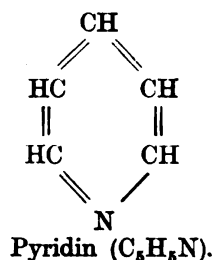
„Wir dürfen wohl schließen, daß aus allen den verschiedenen organischen Stickstoffquellen zuerst Ammoniak gebildet wird, ehe die Eiweißsynthese beginnen kann. Würden die verschiedenen Aminosäuren, Amine etc. als solche verwendet, so müßten schließlich verschiedene Eiweißkörper und damit ein verschieden funktionierendes Protoplasma entstehen“ (O. L., a. a. O.).

Als indifferente organische Stoffe, die nicht ernähren, aber auch nicht giftig sind, führt O. L. auf z. B. Pyridin, Chloral, pikrinsäure und nitranilsäure Salze, Nitrobenzoësäure, oxalsäure Salze, wahrscheinlich auch Amido-benzoësäure.

O. L. versuchte vergeblich, in einer phosphorsaures Pyridin enthaltenden Lösung Schimmel und Spaltpilze zur Entwicklung zu bringen, obgleich

selbst 0,5 Proz. freies Pyridin in einer Peptonlösung diesen Pilzen keinen Schaden bringt.

Die Pilze können das Pyridin eben nicht zur Eiweißbildung benutzen, weil es ein chemisch auffallend beständiger Körper ist und auch von den Pilzen nicht gespalten oder partiell oxydiert werden kann zum Zwecke, um brauchbare Atomgruppen für die Eiweißbildung herzustellen.



#### Grüne und nichtgrüne Pflanzen (speziell Pilze).

Bei der Ernährung grüner Pflanzen tritt die Kohlensäureassimilation so sehr in den Vordergrund, daß man seit der Entdeckung dieses fundamentalen Vorganges auf die organische Ernährung grüner Pflanzen fast völlig vergessen hat.

Und doch ist dieselbe zweifellos normaler Weise vorhanden, wie die einfachste Überlegung lehrt, wenigstens als innerer, von Pflanzenteil zu Pflanzenteil wirkender Vorgang.

Denn die Assimilate müssen doch von den wachsenden Teilen des Pflanzenkörpers, wie Knospen, Wurzelspitzen, verwendet werden. Sie werden ihnen als Zuckerlösungen, Asparaginlösungen usw. zugeleitet; die in Wachstum und Zellteilung begriffenen Zellen nehmen die Lösung auf und verwandeln sie in Zellhaut, Protoplasmaeiweiß usw.

In den Reservenernährungsbehältern, wie Samen, Knollen, werden die zugeleiteten Lösungen von Nährstoff in Ablagerungsstärke, Proteinkörner usw. verwandelt.

Freilich sind das nur wenige Stoffe, um deren Zuleitung und Assimilation es sich innerhalb der Pflanze handelt. Eine Ernährung von Zelle zu Zelle bedient sich meist immer wieder derselben Stoffe, wie Zucker und Amidokörper. Pepton, das auch diffusibel ist, scheint in Pflanzen wenig aufzutreten. Ich konnte bei meinen Untersuchungen über vegetative Pflanzenteile (Pflüg. Arch. Bd. 80.) niemals Pepton feststellen.

Auch Schulze fand in den Extrakten von Keimpflanzen, jungem Gras, Kartoffel- und Rübensaft Peptone nur in sehr geringer Menge vor.

Dagegen kommen Peptone in Pilzen vor, in der Preßhefe nach O. Loew 2 Proz.

Verf. fand in derselben 2,5 Proz. Pepton.

Da die Peptone im Pflanzenreich nur sehr wenig auftreten, ausgenommen die Pilze und allenfalls die fleischfressenden Pflanzen, so scheint bei den meisten grünen Pflanzen der Eiweißumsatz einen plötzlichen Verlauf zu nehmen.

Nach Schulze und Barbieri sind in Keimlingen als Spaltungsprodukte die einfachen Amidokörper Asparagin, Tyrosin, Leucin usw. nachzuweisen.

Albumosen scheinen im Pflanzenreich ebenso selten zu sein wie Peptone.

Eine organische Ernährung von außen ist bisher fast als ausschließliche Pilzgewohnheit betrachtet worden.

Die Pilze sind an organische Nährsubstrate angepaßt.

Die grünen Pflanzen sind an kohlen säurehaltige Luft akkomodiert.

Das ist die landläufige Vorstellung.

Doch trifft das nicht völlig zu.

Wir müssen auch bei grünen Pflanzen noch stark mit organischer Ernährung von außen rechnen.

Denn organische Zerfallsprodukte, welche von abgestorbenen Tieren und Wurzeln, abgefallenen Blättern und dergl. herrühren, sind fast stets im Boden vorhanden, der Vegetation trägt; ebenso in dem Wasser, das Pflanzen und Tiere produziert.

Sie werden, wie aus vorausgehenden Notizen ersichtlich ist, verwendet.

Die Zahl der organischen Stoffe, welche bei grünen Pflanzen zur Ernährung verwendet werden können, ist viel größer, als man glauben möchte.

Ja, sie grenzt an die der Pilze.

Wenn auch bei vielen Stoffen das Ernährungsvermögen gegen grüne Pflanzen noch nicht feststeht, so läßt sich doch nach den bisherigen Ergebnissen annehmen, daß sie auch grünen Pflanzen zur Nahrung dienen können.

Denn die wirklich bei Chlorophyllpflanzen geprüften Stoffe sind fast alle Nährstoffe für Pilze und für grüne Pflanzen zugleich.

Es liegt sicherlich nur an der geringen Zahl der Untersuchungen bei grünen Pflanzen, daß sie den Pilzen noch nachstehen.

Bisher sind folgende Substanzen als ernährungsfähig erkannt worden (die gemeinsamen Nährstoffe sind gesperrt):

Für Pilze: Methylalkohol, Aethylalkohol, Propylalkohol, Phenol, Glyzerin, Aethylenglycol, Erythrit (?), Mannit, Dulcit, Hydrochinon, Tannin, Ameisensäure, Essigsäure, Oxalsäure, Propionsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure, Buttersäure, Zitronensäure, Asparaginsäure, Glyoxalsäure, Brenztraubensäure, Lävulinsäure, Salizylsäure, Chinasäure, Benzoësäure, Fumarsäure, Malonsäure, Äpfelsäure, Rohrzucker, Traubenzucker, Laevulose, Galaktose, Milchzucker, Rhamnose, Sorbin, Arabinose, Maltose, Inosit, Mannose, Xylose, Erythrodextrin, Salicin, Amygdalin, Raffinose, Dextrin, Inulin, Nitrozellulose, Zellulose, (Para-) Oxybenzaldehyd, Formaldehydschwefligsaures Natron, Methylal, Harnstoff, Glykokoll, Trimethylamin (?), Methylamin, Propylamin, Asparagin, Asparaginsäure, Leucin, Tyrosin, Toluidin, Anisidin, Kreatin, Hydantoin, Allantoin, Pepton, Acetessigester, Aceton, Formaldehyd als Methylal oder selten als formaldehydschwefligsaures Natron (aber immer schwerer als bei grünen Pflanzen), Aethylaldehyd, Oxybenzaldehyd.

Für Algen und andere grüne Pflanzen: Methylalkohol, Aethylalkohol (?), Phenol, Glyzerin, Aethylenglycol, Mannit, Dulcit, Essigsäure, Oxalsäure, Propionsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure, Buttersäure, Baldriansäure, Zitronensäure, Asparaginsäure, Glyoxalsäure, Äpfelsäure, Rohrzucker, Traubenzucker, Laevulose, Galaktose, Milchzucker, Maltose, Formaldehyd, Formaldehydschwefligsaures

Natron, Methylal, Harnstoff, Glykokoll, Trimethylamin, Asparaginsäure, Leucin, Tyrosin, Kreatin, Hydantoin, Formaldehyd (frei und als Methylal oder formaldehydschwefligsaures Natron), Pepton, Acetessigester.

Es gibt somit eine beträchtliche Anzahl von organischen Pilznährstoffen, welche auch C-Quellen für Algen und andere grüne Pflanzen sind.

Verhältnismäßig wenig C-Quellen der Pilze sind bei den grünen Pflanzen nicht verzeichnet; es liegt das dann häufig an dem Mangel an Versuchen bei grünen Pflanzen.

Wenn noch mehr mit grünen Pflanzen experimentiert sein wird, dann wird auch die Übereinstimmung obiger Reihen noch größer werden.

Manchmal kann eine C-Quelle, welche von Algen verwendet wird, bei Pilzen nicht gebraucht werden; bisweilen aber beträchtlich schwerer.

Freier Formaldehyd und Methylal, ferner formaldehydschwefligsaures Natron werden von grünen Pflanzen bei geeigneter Verdünnung gut als C-Quelle verwendet, bei Pilzen schwierig oder (freier Formaldehyd) gar nicht.

Das Trennende zwischen Pilzen und grünen Pflanzen liegt also hauptsächlich in der Kohlensäureassimilation.

Doch ist auch hierin schon eine Brücke gefunden worden.

Man hat Bakterien aufgefunden, welche Kohlensäure assimilieren können.

Hierher gehört die durch Winogradsky zuerst benannte Bakterienart Nitromonas; sie wurde schon vorher von Hueppe beobachtet, welcher auch die nitrifizierende Eigenschaft derselben erkannte. (Biol. Centralbl. 7. p. 702.)

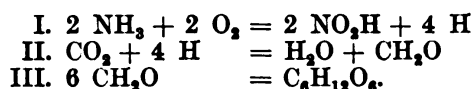
Darüber, wie der Pilz aus der Kohlensäure des kohlensauren Ammoniaks sich organische Stoffe bereitet, haben sowohl Hueppe als Winogradsky Ansichten geäußert.

Winogradsky meint, es entstehe zuerst Harnstoff, Hueppe dagegen, Formaldehyd, resp. ein Kohlehydrat sei das erste Assimilationsprodukt.

O. Loew (Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1891.) schließt sich der Ansicht Hueppes an, mit dem Unterschied jedoch, daß er die Nitrifikation nicht als Folge der Kohlensäurezersetzung betrachtet, sondern umgekehrt.

„Würde nämlich die Kohlensäureassimilation unabhängig von der Nitrifikation resp. Anwesenheit von Ammoniak sein, so müßte der Pilz auch dann gedeihen können, wenn ihm der Stickstoff in Form von Nitraten geboten wäre; denn Nitrate zu reduzieren, ist ja eine viel leichtere Arbeit, als Kohlensäure zu assimilieren nach Art des Chlorophyllkörpers“.

„Man kann sich den Vorgang am plausibelsten so denken, daß bei unvollständiger Oxydation des Ammoniaks Wasserstoff disponibel wird, der zur Reduktion der Kohlensäure dient“:



#### Schlußbemerkungen.

Abhängigkeit der organischen Ernährung von bestimmten Umständen: Daß bei der organischen Pilzernährung, wie auch bei den grünen Pflanzen, äußere Einflüsse eine Rolle spielen,

läßt sich von vornherein erwarten; es fragt sich, welcher Art die Beeinflussung in den einzelnen Fällen ist.

**Temperatur:** *Penicillium glaucum* entwickelt sich nach Thiele auf Traubenzuckerlösung nicht mehr, wenn die Temperatur 31° übersteigt, auf Glycerin nicht mehr über 30° C, auf Ameisensaurem Salz nicht über 35° hinaus.

Die Kohlensäure-Assimilation grüner Pflanzen hört jedenfalls bei den genannten Temperaturen noch nicht auf, wenn sie auch ihr Optimum bereits überschritten hat.

So fand Kreuzler bei seinen Versuchen mit einem beblätterten Zweig von *Rubus fruticosus* in einer 0,3 Proz. Kohlensäure enthaltenden Luft, daß die Assimilation von 2° bis 25° anstieg, dann zurückging, aber auch bei 40° noch nicht aufhörte.

Selbst bei 0° und noch tiefer hat man an grünen Pflanzen noch Kohlensäureassimilation wahrgenommen.

Bei Koniferen wurde von H. Jumelle noch Kohlensäureassimilation bei 30—40° unter 0 festgestellt.

Sind die Chloroplasten empfindlicher gegen Kälte, so zeigen die Pflanzen eine vorübergehende Unfähigkeit, zu assimilieren, wenn das Leben erhalten bleibt.

Eine permanente Aufhebung des Assimilationsvermögens unter Erhaltung des Lebens der Zelle wurde bis jetzt nicht beobachtet.

Vielmehr trat bei abgekühlten, aber nicht abgestorbenen Pflanzen das Assimilationsvermögen stets wiederum ein, nachdem sie einige Zeit in wärmere Temperatur zurückgebracht worden waren.

Die Einwirkung des Lichtes auf die Assimilation organischer Kohlenstoffnahrung durch Pilze ist wenig bekannt.

Im allgemeinen gilt das Licht als schädlich für Pilze, d. h. die Grenze der erträglichen Lichtstärke liegt hier viel tiefer, als bei den meisten grünen Pflanzen.

Welche Funktionen aber geschädigt werden und in welchem Grade, ist nicht bekannt.

Bei grünen Pflanzen wirkt das Licht, wie oft erwähnt, auf die Assimilation der organischen Nährstoffe vorteilhaft.

Es ist das eine recht bemerkenswerte Sache.

Zunächst möchte der Gedanke aufkommen, daß die organischen Stoffe vielleicht durch Oxydation in Kohlensäure verwandelt und diese dann assimiliert wird.

Denn in der Kohlensäureassimilation sind die grünen Pflanzen Meister und auf jene hat das Licht einen entscheidenden positiven Einfluß.

Doch trifft das zweifellos auf jene Fälle nicht völlig zu, in welchen eine Ernährung mit demselben Stoffe auch im Dunkeln beobachtet wird.

Ferner würde das in vielen Fällen doch einen beträchtlichen und unnützen Umweg bedeuten, den die Natur kaum einschlägt.

Wie wir uns die Verwandlung der organischen Stoffe auf dem Wege über  $\text{CHOH}$  denken können, darüber mögen die früher angeführten Äußerungen O. Loews nachgesehen werden.

Da bei grünen Pflanzen allein das Licht günstig wirkt, nicht auch bei Pilzen, so darf wohl angenommen werden, daß die Verwandlung der aufgenommenen

organischen Substanzen bei grünen Pflanzen vorwiegend innerhalb der Chlorophyllapparate vor sich geht.

Daß die Konzentration des organischen Nährstoffes, wie auch anderer beigefügter Stoffe, einen entscheidenden Einfluß hat, mag aus den angegebenen Versuchen entnommen werden.

Man kann in diesem Punkte nicht vorsichtig genug sein.

Viele negative Resultate hängen jedenfalls mit der zu hohen Konzentration zusammen.

Bei nichtgiftigen Stoffen ist ja im allgemeinen eine höhere Konzentration günstiger,

Man kann dort 1—2, ja 5 Proz. anwenden.

Nur darf die Lösung dann nicht wasserentziehend und plasmolytisch wirken, sonst werden anomale Zellverhältnisse geschaffen.

Je mehr Nährstoff zur Verfügung steht, desto ausgiebiger wird, wenn die Zellverhältnisse nicht gestört sind, die Assimilation ausfallen.

Säurezusatz ist bei Versuchen mit Schimmelpilzen förderlich, weil damit andere Pilze mehr oder weniger ausgeschlossen werden.

Nägeli setzte in der Regel bis 1 Proz. Phosphorsäure zu, wenn er Schimmel erhalten wollte. Bei Hefe wirkt schon 0,1—0,2 Proz. ungünstig.

So mag es wohl auch sonst noch Stoffe geben, die für den einen Pilz schädlich sind, für den anderen nicht und damit zum Ausschluß unerwünschter Pilzarten dienen können.

Versuche in dieser Richtung sind noch wenig gemacht worden.

Es mag hier nur noch erwähnt sein, daß *Saccharomyces* viel größere Mengen von Alkohol erträgt, wie die meisten anderen Pilze.

Man kann also davon zur Reinerhaltung der Hefe Gebrauch machen.

Sie erzeugt ihn selbst durch Gärung.

Ein allzu großes Maß wirkt aber schädlich und tut schließlich dem Wachstum Einhalt.

Sie wird also durch diesen, ihr sonst so vorteilhaften Stoff am Ende doch ungünstig beeinflußt.

Ähnlich ist es mit der Kohlensäure bei grünen Pflanzen, die davon so guten Gebrauch zu machen wissen und diesen Stoff selbst durch Atmung erzeugen.

Nach Bousingault werden grüne Pflanzen durch ein Übermaß von Kohlensäure geschwächt.

Er nannte diesen Zustand „Asphyxie“.

Ferner ist der Einfluß des Sauerstoffes auf die Assimilation von großer Wichtigkeit.

Bezüglich der Pilze brauche ich hier keine Worte zu verlieren, da er zu bekannt ist und oft studiert wurde. Er ist hier, wie bei den allermeisten Organismen, von ausschlaggebender Bedeutung, da er die Verbrennungsvorgänge im Innern der Zellen bewirkt und damit Energie erzeugen hilft. Selten kann diese Energie auf anderem Wege gewonnen werden.

Wie weit er zu den einzelnen Lebensleistungen nötig ist, kann freilich nicht immer gesagt werden.

Cremer und Verf. haben durch Versuche an Spirogyren die Erfahrung machen müssen, daß nicht einmal die besten Nährstoffe, wie Zucker, leicht assimiliert werden, wenn keine Sauerstoffzufuhr da ist.

Erst bei langer Versuchsdauer bildet sich etwas Stärke.

Bei sauerstoffarmen Nährstoffen ist der Sauerstoff schon deswegen nötig, weil sonst eine Umwandlung derselben in Kohlehydrat und Eiweiß ausgeschlossen ist (siehe früher).

Die Nährsalze dürfen bei allen Versuchen über Assimilation organischer C-Quellen nicht vergessen werden, außer es handelt sich um die Feststellung geringer Anfänge von Neubildung, zu denen die vorhandenen Salze in der Zelle schon ausreichen.

Ich erhielt, wenn ich Hefe mit Rohrzucker allein ernährte, selbst bei Anwendung 20 proz. Rohrzuckerlösung, keine Trockensubstanzvermehrung (B., in Br. und Chem. Ztg. 14. August 1902).

Milchzucker und Glycerin, jedes für sich, ohne jeden sonstigen Zusatz angewendet, ergaben nur geringe Trockensubstanzvermehrung. Der nötige Stickstoff wurde vermutlich aus den Verunreinigungen des Zuckers usw. entnommen.

Gifte wirken hemmend oder verhindernd auf die Ernährung ein.

Doch soll es Verdünnungen geben, bei denen dieselben förderlich sind.

Nach Raulin kann durch eine kleine Zugabe von Zink oder Mangan das Erntegewicht der Pilze gesteigert werden.

Richards gibt sogar an, daß dasselbe durch alle wirklichen Gifte bei genügend kleiner Dosierung erreicht wird.

Die Preßhefe (Brauerei-) zeigte sich in einem meiner Versuche vorteilhaft beeinflusst durch 0,01 Proz. (freie) Phosphorsäurezusatz zur Nähr- und Gärung.

Die Trockensubstanzzunahme war größer, als bei einem unter gleichen Bedingungen gestellten Kontrollversuch.

Ähnlich wirkte 0,01 Proz. (freie) Schwefelsäure.

0,01 Proz. Kupfervitriolzusatz aber wirkte schädlich ein.

Möglicherweise fördern noch größere Verdünnungen.

Gerade bei Kupfervitriollösungen wurde an einigen Bakterien bei sehr großer Verdünnung ein günstiger Einfluß bemerkt.

Über die angewandten Methoden:

Was zunächst die Versuche mit Algen betrifft, so ist es von Wichtigkeit, daß überall die gleiche Versuchsweise eingehalten wird, um vergleichbare Resultate zu bekommen.

Das am meisten von mir verwendete Objekt waren Spirogyren.

Dieselben werden meist stärkehaltig in der Natur vorgefunden.

Um sie zu entärken, werden sie einige Tage mit 0,1 Proz. Calciumnitrat ins Dunkle gestellt. Man kann auch durch Zusatz von 0,02 Proz. Magnesiumsulfat und 0,05 Proz. Monokaliumphosphat für rasches Wachstum und Zellteilung Sorge tragen; dann geht die Entärkung um so rascher und sicherer vor sich.

Um nun auch die Kohlensäure beim Entscheidungsversuch auszuschließen, die natürlich zu Täuschungen oder Unklarheiten führen könnte, wenn, wie gewöhnlich, um rasch zu Ende zu kommen, Lichtversuche angestellt werden, bringt man die entärkten Algen (von deren Entärkung man sich mikroskopisch mit Jodlösung überzeugt hat) in kleine Gläschen mit gut schließendem Korkstöpsel, etwa 20 ccm fassend. Das zur Nährlösung angewendete Wasser wird gründlich ausgekocht und kochend heiß in die Versuchsgläschen (vor dem Einbringen der Algen) gegossen, etwa zu 10 ccm; die Gläschen werden sofort geschlossen und nach dem Abkühlen nur noch einmal rasch geöffnet, um die Algen in kleiner Menge einzusetzen, dann dem Lichte ausgesetzt.



Meist stellt sich schon nach 12 Stunden Lichteinwirkung Stärkeansatz in den Chlorophyllapparaten ein, wenn der zugesetzte organische Nährstoff eine Kohlenstoffquelle ist.

Kontrollversuche (ohne organische Substanz) müssen natürlich immer nebenher gehen, um volle Sicherheit zu haben.

Weil manche Kohlenstoffquellen nur schlecht und langsam verwertet werden, ist es ratsam, den Versuch auf mehrere Tage auszudehnen, wenn die erste Besichtigung noch kein positives Resultat ergibt.

Hinsichtlich des Stärkeansatzes sind von J. B ö h m Beobachtungen publiziert worden, welche zeigen, daß auch ohne Assimilation und Zufuhr organischer Substanz von außen Stärke angesetzt werden kann, nämlich durch Umwandlung des in der Zelle selbst vorhandenen Reservezuckers (J. B ö h m, Stärkebildung in *Sedum spectabile* Boreau. Botan. Centralbl. 1889. I. Quartal).

Diese Umwandlung tritt ein, wenn durch Einwirkung starker Salzlösungen, oder durch sonstige wasserentziehende Mittel die Zellflüssigkeit konzentriert wird, also zuckerreicher wird.

Ein Teil des vorher gelösten Zuckers schlägt sich dann als Stärke in den Chlorophyllapparaten nieder.

Doch treten solche Erscheinungen nur bei wenigen, an Reservezucker reichen Pflanzenzellen ein, wozu *Spirogyra* nicht gehört.

Außerdem sind die von mir gewählten Konzentrationen, schon mit Rücksicht auf die sonst schädliche Wirkung des Stoffes, fast immer so gewählt worden, daß eine Wasserentziehung ausgeschlossen erscheint.

Der Stärkeansatz ist also, bei richtiger Vorsicht, ein sicheres Zeichen für Ernährung der chlorophyllführenden Pflanzen von außen.

Hingegen darf aus dem Ausbleiben des Stärkeansatzes nicht auf den Mangel einer Ernährung geschlossen werden, da ja der Stärkeansatz nur die Bildung eines Überschusses von Kohlehydrat bedeutet.

Tatsächlich kann man bei manchen Versuchen hinreichende Ernährung beobachten, ohne daß eine Spur von Stärkeansatz erfolgt. Es wird eben das entstandene Kohlehydrat durch Wachstum verbraucht.

Der Stärkeansatz findet bei *Spirogyren* zunächst immer in der Umgebung der Pyrenoide statt.

Später können aber — bei sehr reichlicher Ernährung — auch außerhalb derselben Stärkekörnchen auftreten, wie ich oft beobachtete.

Vermutlich wurden dieselben von ihren ursprünglichen Entstehungs-orten durch die neuen Stärkekörner abgedrängt.

Die Nährlösungen müssen so gewählt werden, daß sie nicht schädlich, aber auch nicht wirkungslos, sind.

Entsteht bei der Zersetzung einer Nährsubstanz ein schädlicher Stoff (intermediär oder durch Nebenwirkungen), so muß für Unschädlichmachung desselben gesorgt werden (siehe Oxymethylsulfonsaures Natron).

Die Lösung dient entweder zum völligen Einlegen von Pflanzen (Algen) oder zum Eintauchen der Wurzeln bei Wasserkulturen von Blütenpflanzen oder zum Begießen bei Topfpflanzen.

Auch in ersteren beiden Fällen ist manchmal, wegen Pilzwachstums, eine Erneuerung der Lösung am Platze.

Bei Blütenpflanzen ist auf die gerne sich einstellenden Schädlinge zu achten, die, wie der Kohlweißling bei Kohl, den ganzen Versuch zunichte machen können.

Die Versuche mit Algen nehmen meist nicht mehr als 8—14 Tage in Anspruch.

Bei Blütenpflanzen freilich ist die Versuchszeit meist wesentlich länger zu nehmen.

Ich begoß beispielsweise Kohlpflanzen 3 Monate lang mit Lösungen von Methylalkohol, Methylal, Glycerin usw., um recht große Ausschläge zu erhalten (Biochem. Zeitschr. 1915).

Die Methodik bei Pilzversuchen gestaltet sich naturgemäß wiederum anders.

Nehmen wir als Beispiel die Hefe an.

Soll festgestellt werden, ob dieselbe mit einer bestimmten organischen Nahrung als Kohlenstoffquelle auskommen kann, so infiziert man am besten die entsprechend hergerichtete Nährlösung mit einer Spur Hefe, so daß eine sichtbare Trübung nicht zustande kommt.

Die Versuche werden dann bei gewöhnlicher Zimmertemperatur oder im Brutofen oder bei niederer Temperatur aufgestellt und Tage bis Wochen lang beobachtet.

Stellt sich binnen mehreren Tagen keine Trübung (aus Hefe bestehend) ein, so kann man wohl annehmen, daß der betreffende organische Stoff kein Nährstoff sei, vorausgesetzt, daß die richtige Konzentration des Nährstoffes und die richtigen Beigaben getroffen wurden.

Sollte das Versuchsergebnis negativ sein, so sind immer noch weitere Versuche mit abgeänderter Verdünnung anzustellen, event. auch mit anderen Beigaben, wie Stickstoffquellen von anderer Art.

Es kommt nicht selten vor, daß eine Kohlenstoffquelle bei 0,1 Proz. noch zu stark konzentriert ist und bei weiterer Verdünnung doch noch positives Resultat ergibt.

Stellt sich eine Trübung sehr spät ein, so ist nachzuforschen, ob nicht eine Umwandlung des Nährstoffes, etwa durch Oxydation stattgefunden hat, und somit das Oxydationsprodukt der Nährstoff ist.

Bei quantitativen Versuchen setzt man von Anfang an eine bestimmte Menge Hefe, etwa 1 g, zu, um nach einer bestimmten Zeit die Zunahme an Trockensubstanz zu bestimmen.

Die Trockensubstanz der Anfangsmenge muß natürlich bekannt sein.

Eine andere Sache ist es mit Bakterien, die meist in größerer Menge nicht vorrätig sind.

Hier sind, wenn es geht, Spuren von Reinkulturen zuzusetzen. Eine Bestimmung des Verhältnisses von Endquantität zur Ausgangsquantität ist dann nicht möglich.

Oft wird es auch nicht möglich sein, Reinkulturen bestimmter Bakterienarten zu verwenden.

N a e g e l i hat viele seiner Versuche in der Weise angestellt, daß er mit Spuren einer gefaulten Flüssigkeit infizierte, oder auch die Probeflüssigkeiten offen an der Luft stehen ließ, wobei dann die Mikroben aus der Luft anfliegen mußten.

Auch Verf. hat vielfach dieses Verfahren eingehalten.

Man hat dies beanstandet, aber nicht ganz mit Recht.

Denn in der Luft sind mannigfaltige Bakterienkeime enthalten.

Man wird also über die Frage, ob überhaupt Bakterien in der Lösung wachsen, durch einen solchen Versuch einigen Aufschluß erhalten.

Genügend bekannt ist, daß bei Bakterienversuchen meist neutrale oder

schwach alkalische Beschaffenheit der Nährlösung herrschen soll, während von Schimmelpilzen saure Medien bevorzugt werden.

Bei Bakterien- (oder auch Hefe-) Versuchen über die Nährfähigkeit von organischen Säuren sind also Salze derselben anzuwenden.

Die geringe Löslichkeit mancher organischen Stoffe in Wasser macht auch oft Schwierigkeiten.

Oft lösen sich solche Stoffe in Äthylalkohol genügend auf.

Ich stellte mir dann wässrige Lösungen durch Eingießen bestimmter kleiner Mengen der alkoholischen Lösung in Wasser her.

Kontrollversuche müssen dann entscheiden, ob nicht der Alkohol ein etwaiges positives Resultat bewirkt habe.

Die Nährstoffe (C-Quellen) wurden in den oben angeführten Versuchen fast immer als einzige in den Nährlösungen angewendet.

Das hat ja seine großen Vorteile.

Denn sonst können Unklarheiten entstehen.

Es soll aber nicht verkannt sein, daß vielleicht mancher Stoff noch als Nährstoff Verwendung finden würde, wenn er neben einem guten Nährstoff vorhanden wäre; er könnte sozusagen in den Stoffwechsel mit hineingerissen werden.

Umgekehrt kann ein schlechterer Nährstoff durch einen guten „geschützt“ werden.

Nach Pfeffer (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 28. 1895) wird zwar die Essigsäure weder durch Dextrose, noch durch Pepton geschützt, die Milchsäure aber kann, ebenso wie das Glycerin, bei hinreichenden Mengen von Dextrose und Pepton vor der Verarbeitung bald mehr bald weniger, mitunter sogar ganz, bewahrt werden.

Bei Darbietung von 4 Proz. Dextrose und 1,6 Proz. Glycerin wird durch *Aspergillus niger* bei vorwiegendem Dextrosekonsum noch eine geringe Menge von Glycerin verarbeitet.

Steigt jedoch die Menge der Dextrose auf 8 Proz. und verringert sich die des Glycerins auf 0,92 Proz., so wird das Glycerin vollkommen geschützt.

Umgekehrt kann das letztere, selbst wenn in gewaltigem Überschuß vorhanden, die Dextrose niemals vollkommen schützen.

Daß aber trotzdem ein Zusatz von Glycerin den Verbrauch der Dextrose einschränkt, geht aus den Versuchen mit *Penicillium* hervor.

Was die Zusammenstellung Pepton-Glycerin betrifft, so wird bei *Aspergillus* das Glycerin besser durch Pepton als durch Dextrose geschützt.

4,5 Proz. Pepton schützen 1 Proz. Glycerin vollkommen.

Bei *Penicillium* ist Pepton zwar weniger wirksam als bei *Aspergillus*; aber auch bei diesem schützt es besser als Dextrose.

Werden auf 1 Teil Essigsäure etwa 10 Teile Dextrose geboten, so erweisen sich nach Ablauf des Versuches 75 Proz. der Essigsäure, aber nur 50 Proz. der Dextrose als verbraucht.

Nichtsdestoweniger vermag aber die Essigsäure nicht dauernd, die Dextrose zu schützen, denn die letztere wird endlich bis auf die letzten Spuren verbraucht.

Wenn zwei gute Nährstoffe nebeneinander anwesend sind, z. B. Dextrose und Pepton, so werden beide verbraucht.

Auch geringe Mengen von Dextrose werden neben viel Pepton glatt verbraucht.

Doch geht aus den Versuchen von Butkewitsch (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 38. 1903) hervor, daß die Anwesenheit von Dextrose die Peptonspaltung etwas einschränken kann (Lafar, Techn. Mycol. Bd. I. p. 360). Eine Gegenerklärung siehe daselbst.

Bei Ernährung mit Glykosiden findet nach Butkewitsch (Ber. d. bot. Ges. Bd. 16. 1898) ein verschieden starker Verbrauch der Spaltungsprodukte statt, wie ja von vornherein wahrscheinlich.

Von den Spaltungsprodukten wird zuerst die Dextrose, dann das Benzolderivat verzehrt, falls letzteres nicht in der Nährlösung verbleibt.

Salicin wird ferner durch die 6 fache Menge Dextrose, die 12—13 fache Menge von Saccharose, die 14—16 fache von Stärke geschützt.

Helicin wird nicht gespalten bei Anwesenheit der 7 fachen Menge von Dextrose und 12—13 fachen Menge von Saccharose.

Arbutin wird nicht gespalten, wenn 11—12 mal so viel Saccharose anwesend ist.

Sind zwei verschiedene Glykoside gleichzeitig anwesend, so werden beide mit gleicher Energie gespalten.

Gegenseitiger Schutz scheint nicht zu bestehen.

Eine ausreichende Erklärung für diese merkwürdigen Dinge zu geben, ist nicht möglich.

Doch darf eine chemische Erklärung nicht als unmöglich bezeichnet werden, wenn auch die gegenwärtigen chemischen Kenntnisse nicht ausreichen dürften.

Am meisten möchte wohl die Lehre vom chemischen Gleichgewicht einschlägig sein, wobei die verschiedenen Mikroorganismen als mit verschiedener Angriffsfähigkeit gegen die Nährstoffe ausgerüstet gedacht werden müssen und die Stoffe zuerst zerstört werden oder auch zunächst allein verbraucht werden, welche diesen Angriffen am leichtesten unterliegen. Die Konzentrationen sind dabei natürlich ausschlaggebend.

Das Eindringen der Nährstoffe:

Manche organischen Stoffe müßten nach ihrer chemischen Beschaffenheit eine vorzügliche Nahrung sein, sind es aber nicht, weil sie nicht eindringen.

So ist für Hefe Pepton eine ausgezeichnete Nahrung, Somatose keine, wie folgender Versuch lehrt:

I.			
Wasser . . . . .	400 g		
Somatose (Albumose aus Fleisch) . . . . .	1 g	d. i.	0,25 %
Rohrzucker . . . . .	20,0 g	d. i.	5,00 %
Monokaliphosphat . . . . .	0,8 g	d. i.	0,2 %
Bittersalz . . . . .	0,4 g	d. i.	0,1 %
Preßhefe von 33,5 % Trockensubstanz	1 g		

II.			
Wasser . . . . .	400 g		
Pepton (aus Fleisch) . . . . .	10 g	d. i.	2,5 %
Rohrzucker . . . . .	40 g	d. i.	10 %
Monokaliphosphat . . . . .	2 g	d. i.	0,5 %
Bittersalz . . . . .	0,4 g	d. i.	0,1 %
Preßhefe von 33,5 % Trockensubstanz	1 g.		

Erstere Mischung enthält, wie ersichtlich, eine Albumose als einzige Stickstoffquelle, ferner Rohrzucker als einzige Kohlenstoffquelle.

Sie blieb 2 Tage lang bei 25° stehen und geriet dabei in lebhafte Gärung.

Nach 2 Tagen, als der Versuch beendet wurde, war die Gärung noch im Gange.

Nach dem Filtrieren und Waschen wurde die Hefe, die sich nicht sichtlich vermehrt hatte, auf dem Filter gesammelt und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Die Trockensubstanz betrug nur 30 g.

Also hatte sich die Hefe nicht vermehrt, ihre Trockensubstanz war sogar etwas weniger geworden — um 10,5 Proz.

Wie ist dieser negative Erfolg zu erklären?

Nur aus der schweren Diosmierbarkeit der Albumose; sie vermag nicht, in die Hefezelle einzudringen.

Denn daß sie, wenn sie in die Hefezelle gelangt ist, nicht ernährt, ist bei diesem sonst so ausgezeichneten Nährstoff, der chemisch zwischen genuinem Eiweiß und Pepton in der Mitte steht, nicht anzunehmen.

Wir haben hier ein ausgezeichnetes Beispiel dafür, daß gute Nährstoffe unter Umständen nicht ernähren.

Die Aufnahme nicht diosmierbarer Stoffe, welche z. B. für die Magen- und Darmschleimhaut leicht ist, gelingt bei der Hefe nicht, darum bleibt der denkbar beste Nährstoff unbenutzt liegen.

Pepton ist hingegen eine vorzügliche Nahrung für Hefe, weil es in dieselbe eindringt und bei ihrer Eiweißnatur dann leicht assimiliert wird.

Bei Versuch II hatte sich die Hefe nach 2-tägigem Stehen der Mischung bei 25° im Brutofen sichtlich vermehrt. Fäulnisgeruch war nicht vorhanden.

Die Trockensubstanzbestimmung der auf dem Filter gesammelten, wiederholt ausgewaschenen Hefe ergab nun 0,88 g Trockensubstanz.

Also hatte die Trockensubstanz bei Pepton als einziger Stickstoffnahrung um nahezu 163 Proz. zugenommen.

Ein Versuch, ohne Zucker mit Pepton angestellt, also unter Ausschluß von Gärung und Benutzung des Peptons als einziger Stickstoff- und Kohlenstoffquelle zugleich, ergab ebenfalls starke Trockensubstanzzunahme.

Es wurden dann noch ähnliche Versuche unter Benutzung von Asparagin, Asparaginsäure, Benzin, Tyrosin, Glykokoll als einziger Stickstoffquelle aufgestellt.

Alle diese Substanzen drangen ein und dienten als Nahrung.

Sie ergaben Vermehrung der Trockensubstanz, wenn auch in geringerem Maße als bei Pepton.

Bei Asparagin fand kein Zusatz einer besonderen Kohlenstoffquelle statt.

Bei den vier anderen Versuchen wurde noch Rohrzucker als C-Quelle zugesetzt.

Prozentisch ausgerechnet ergibt sich folgendes:

Es wurde gefunden bei:

	Trockensubstanz- zunahme in %
Fleischalbumose . . . . .	— 10,5
Fleischpepton mit Zucker . . . . .	+ 163
„ ohne Zucker (bei Sauerstoffatmung) . . .	+ 152
Asparagin . . . . .	+ 96,8
Asparaginsäure (mit Dakaliphosphat) . . . . .	+ 55,2
Leucin . . . . .	+ 82
Tyrosin . . . . .	+ 54,4
Glykokoll . . . . .	+ 19,4

Der mutmaßliche Grund für das negative Resultat bei Fleischalbumose wurde schon oben besprochen.

Warum gerade das Pepton eine so eminente Nahrung für Hefe ist, daß die Trockensubstanzzunahme bei Peptonnahrung alle sonstige Assimilationsleistung der Hefe weit überragt, das hat seine Ursache wahrscheinlich nicht in dem besseren Eindringen des Peptons, sondern in der Proteinnatur der Peptone.

Sie sind in ihrer chemischen Beschaffenheit den echten Eiweißstoffen ähnlich und können durch einfache Wasserabspaltung wieder in diese übergehen, wie sie durch Hydratisierung aus denselben entstehen.

Es wird also der Hefe ein leichtes sein, daraus (unter Aktivierung) ihr Protoplasma zu bilden.

Asparagin, Asparaginsäure, Benzin, Tyrosin, Glykokoll stehen weit ab von den Eiweißstoffen.

Um die Eiweißbeschaffenheit zu erreichen, müssen große Veränderungen mit ihnen geschehen.

Darum der geringere Effekt bei Ernährungsversuchen mit ihnen.

Immerhin ist die Nährkraft des Asparagins und Leucins noch eine recht respektable, die des Tyrosins wesentlich geringer.

Im übrigen fehlen Versuche über die Raschheit des Eindringens von Nährsubstanzen.

Man darf aber nach allem, was man sonst über das Eindringen von Stoffen beobachtet, wohl annehmen, daß dasselbe auch bei Nährstoffen recht schnell vor sich geht.

Läßt man z. B. 0,1 proz. Coffein-Lösung auf lebende Spirogyren einwirken, so bemerkt man schon binnen wenigen Minuten eine Veränderung im Protoplasma, die ohne Absterben desselben verläuft.

Es tritt eine Körnchenbildung in demselben ein, die fast rascher als man beobachten kann, die ganze Zelle ergreift.

Ähnlich ist es bei sehr verdünnten Ammoniaklösungen.

Darwin hat etwas Ähnliches beim Auflegen von Fleischstückchen auf die Drüsenhaare von *Drosera* beobachtet.

Hier sind es wohl die Fleischbasen, welche die Veränderung bewirken.

Denn man kann mit sehr großen Verdünnungen von Ammoniak, Coffein und anderen Basen dieselbe Erscheinung (Aggregation) hervorrufen.

Was die Verdünnung der Stoffe anbetrifft, so braucht man, falls derselbe überhaupt mit der lebenden Zelle in Reaktion tritt, nicht zu befürchten, daß eine noch so große Verdünnung den Stoff unwirksam macht.

Verf. konnte bei seinen Arbeiten über Giftwirkung beobachten, wie selbst Verdünnungen von 1 : 1 Million oder 1 : 10 Millionen noch bei relativ kurzer Versuchszeit eine deutliche Wirkung hervorbrachten.

Die großen Verdünnungen, bei welchen chemische Stoffe noch auf lebende Zellen wirken, sind überhaupt schon vielfach Gegenstand der Bewunderung gewesen, und dürften auch namentlich in medizinischer Hinsicht interessieren.

Direkt sichtbar ist die rasche Einwirkung auch der größten Verdünnungen bei Anilinfarbstoffen, die von dem lebenden Protoplasma gebunden werden.

Verf. konnte beobachten, wie Infusorien, indem sie umherschwammen, aus den unglaublichsten Verdünnungen der Farbstoffe diese aufnahmen und allmählich tiefer gefärbt wurden.

Die Aufnahme der Stoffe aus verdünnten Lösungen hat fast keine Grenze.

Quantität der Assimilationstätigkeit (Nährstofferzeugung) der Pilze, verglichen mit der grünen Pflanzen. Die Assimilationsgröße bei Pflanzen ist etwas, was immer noch viele Untersuchungen erfordert.

Wenn man bedenkt, wie wichtig diese Frage ist, weil durch die Assimilation in den Pflanzen die gesamten vorhandenen Eiweiß- und Kohlehydratstoffe erzeugt werden, so muß jeder Beitrag zu dieser Frage wertvoll erscheinen.

Wie stark ist die Nährstofferzeugung bei grünen Pflanzen?

Eine *Phaseolus m.* (Feuerbohnen) Pflanze gewann nach Weber 5,836 g Trockensubstanz binnen 48 Tagen, eine Pflanze von *Helianthus annuus* 29,906 g.

Aus diesen Zahlen berechnen sich, unter Berücksichtigung der Blattflächenentwicklung und unter Anbringung einer Korrektur für den Substanzverlust durch Atmung, als „Assimilationserreger“ für 1 Quadratmeter Blattfläche in 10 Stunden (1 Tag) für *Phaseolus* 3,413 g, für *Helianthus* 5,559 g.

Wenn nun, wie angenommen sei, 1 Quadratmeter Blatt 100 g Trockensubstanz ausmacht, so ergibt sich also binnen 10 Stunden eine Trockensubstanzvermehrung von 3,413 Proz. bei *Phaseolus* und 5,559 Proz. bei *Helianthus*.

Verf. selbst hat Untersuchungen über diesen Punkt bei *Spirogyra* gemacht.

Es konnte festgestellt werden, daß auf 100 g Trockensubstanz binnen 10 Tagen 16,8 Proz. Glyzerin und binnen 5 Tagen 6,64 Proz. verbraucht wurden (bei Glyzerin als ausschließliche Kohlenstoffnahrung).

Daß die Algen bei Glyzerinzufuhr Stärke ansetzen, wurde schon früher gesagt. Dasselbe wird zur Nährstofferzeugung verwendet.

Nehmen wir an, daß ebensoviel Kohlehydrat entstand, als Glyzerin verbraucht wurde, so ergibt sich eine Trockensubstanzzunahme von 16,8 Proz. binnen 10 Tagen und 6,69 Proz. binnen 5 Tagen.

In 10 Licht-Stunden (= 1 Tag) würde also die Trockensubstanz sich um den zehnten, bzw. fünften Teil dieses Betrages, also um 1,68 bzw. 1,33 Proz., bei *Spirogyra* vermehrt haben.

Demnach scheint die (Glyzerin-) Assimilation bei *Spirogyra* wesentlich geringer zu sein als die (Kohlensäure-) Assimilation bei *Phaseolus*, und bei dieser wieder geringer als bei *Helianthus*.

Bei Kohlpflanzen, welche vom Keimpflanzenstadium an (zu je 2 g) Lebendgewicht der einzelnen Keimpflanze) bis zum halbfertigen Zustande 3 Monate lang (April, Mai, Juni) bei vollem Lichtzutritt vor dem Fenster im Topf gezogen wurden, unter Begießung mit Nährlösung, die in einem Fall methylalkoholhaltig war, erhielt ich eine Gewichtsvermehrung von 2 g auf 74 bei den Kontrollpflanzen, auf 138 g bei der Methylalkoholpflanze.

Das macht auf 100 g Lebendgewicht bei Kohl in einem Durchschnittstag ca. 36 g bzw. 68 g, also 36 Proz. bzw. 68 Proz. pro Tag.

Auf Trockensubstanz bezogen, ungefähr ebensoviel.

Die Assimilation ist bei Kohl also viel größer als bei *Phaseolus* und *Helianthus*, und noch unvergleichlich stärker im Vergleich zu *Spirogyra*.

Freilich ist bei Kohl auch die Versuchszeit wesentlich länger; ungefähr doppelt so lang als bei *Phaseolus* und 10 mal so lang als bei *Spirogyra*.

Das macht ja recht viel aus.

Denn mit der Versuchszeit wächst auch die assimilierende, lebende Pflanzenmasse beständig, so daß schließlich (am letzten Tage) das nährstofferzeugende Protoplasma bei Kohl das 37-, bzw. 69-fache des unrsprünglichen Quantums betrug, oder auch die Schlußtrockensubstanz das 37-, bzw. 69-fache.

Bei kurzer Versuchszeit ist natürlich die Vermehrung der assimilierenden Pflanzensubstanz entsprechend geringer.

Bei meiner Berechnung ist aber supponiert, daß eine stets gleichbleibende Protoplasmaquantität assimiliert. Das ist ein Fehler, der sich um so mehr steigern muß, je länger die Versuchszeit dauert.

Wie stark die Assimilation bei Hefe ist, wenn der Kohlenstoff als (Rohr-) Zucker und Weinsäure, der Stickstoff als weinsaures Ammoniak dargeboten wird, darüber haben Naegeli und Loew einige Versuche publiziert (Ak. d. Wiss. München. 1879.).

Vier Flaschen a, b, c, d erhielten gleiche Mengen Bierhefe, nämlich je 2,652 g Trockensubstanz entsprechend, und je einen Liter Nährflüssigkeit von folgender Zusammensetzung:

Rohrzucker . . . . .	10,0 %
Ammontartrat . . . . .	0,5 %
Dikaliumphosphat . . . . .	0,035 %
Magnesiumsulfat . . . . .	0,006 %
Calciumchlorid . . . . .	0,0015 %
Ammonsulfat . . . . .	0,0061 %.

Die Flaschen a und c wurden in einen Brutkasten (28 bis 32° C) gestellt, b und d hatten Zimmertemperatur (15—19°); mit kontinuierlichem Luftstrom wurden a und b behandelt.

Nachdem so viel Zucker verschwunden war, daß man einen süßen Geschmack kaum mehr wahrnehmen konnte, wurde die überstehende Flüssigkeit von der Hefe abgegossen und neue Nährlösung zur Hefe gegeben. Aus der abgegossenen Flüssigkeit setzte sich nach längerem Stehen an einem kühlen Ort stets noch etwas Hefe ab, welche dann in die betreffenden Flaschen zurückgegeben wurde.

Mit der fortschreitenden Gärung trat eine zunehmende saure Reaktion<sup>1)</sup> auf, welche durch titrierte Ammoniakflüssigkeit neutralisiert wurde, um dem Hefenwachstum keine ungünstigen Bedingungen erwachsen zu lassen. Bei a und c, also da, wo höhere Temperatur einwirkte, erwies sich die Säurebildung am stärksten.

Am 10. Tag wurden die Versuche unterbrochen, die Ernten gewaschen und in Zylindergläschen absetzen lassen, um das Volumen mit dem Gewicht vergleichen zu können, dann ein Zehntel zur Trockensubstanz verwendet.

Das Resultat ist in der Tabelle auf p. 369 wiedergegeben.

Gleichzeitiger Einfluß von Luft und Wärme begünstigt also in dem verhältnismäßig kurze Zeit dauernden Versuch das Resultat ungemein; denn in a wurde nicht nur das größte Erntegewicht, sondern auch die bestgenährte Hefe erhalten, was aus dem Vergleich der spezifischen Gewichte sich ergibt.

<sup>1)</sup> Auf eintretender Milchsäuregärung beruhend.



	Verbrauchte Liter Nährlösung	Ernte- gewicht g	Erntevolum in ccm	Ernte, im Vielfachen der Aus- saat	Gewicht eines ccm Hefe nach dem Trocknen g	Verbrauchte Menge Ammoniak g
a	7	7,72	43,7	<b>2,91</b>	0,176	6,32
b	4	6,04	36,7	<b>2,27</b>	0,164	3,75
c	6	4,29	26,5	<b>1,62</b>	0,162	5,81
d	5	2,81	18,1	<b>1,06</b>	0,155	4,20

Aus dem Resultat bei d ergibt sich aber, daß die angewandte Nährlösung bei mangelhaftem Luftzutritt und gewöhnlicher Temperatur keine günstige Ernährung herbeiführte.

Die Stickstoffbestimmungen in den Ernten ergaben folgendes Resultat:

	Absolute Menge Stickstoff	Stickstoff in %
a . . . . .	0,529	6,85
b . . . . .	0,347	6,18
c . . . . .	0,299	6,97
d . . . . .	0,197	7,03
Aussaat . .	0,238	9,00

Es geht daraus hervor, daß, während bei gleichzeitiger Anwendung von Luft und Wärme die Eiweißsubstanzen um mehr als das Doppelte zunahmen, bei Abwesenheit dieser Faktoren sogar eine Verminderung (durch Ausscheidung) eintrat.

Die Trockensubstanz war bei diesen Versuchen im günstigsten Fall (a) beinahe verdreifacht worden binnen 10 Tagen, im ungünstigsten (d) nicht wesentlich gestiegen.

Einige neue, vom Verfasser in den letzten Monaten angestellte Versuche über Assimilation durch Hefe sollen nun beschrieben werden. Es sind dabei abwechselnd entweder Rohrzucker oder Pepton als Kohlenstoffnahrung gegeben worden; der Stickstoff wurde als schwefelsaures Ammon dargeboten im ersten Fall, bei Peptonnahrung bedurfte es keiner besonderen Stickstoffquelle.

1. Folgende Nährlösung wurde angewandt:

- 1 l Brunnenwasser (Münchener Leitungswasser),
- 50 g Rohrzucker,
- 5 g schwefelsaures Ammon,
- 1 g Monokaliumphosphat,
- 1 g Bittersalz.

Dazu wurde 1 g reiner Hefe von 31 Proz. Trockensubstanz gebracht, welche zuerst in etwas Brunnenwasser verteilt worden war.

Der Versuch wurde zuerst 1 Tag lang im Brutofen bei 35° gehalten, dann 2 Tage bei Zimmertemperatur (18° C).

Es wuchs die Hefenmenge sichtlich; ein Bodensatz und Wandbelag bildete sich. Am Ende des 3. Tages wurde der Versuch unterbrochen und die Hefe auf einen Filter gesammelt, dann ausgewaschen und getrocknet bis zur Gewichtskonstanz. Es ergab sich 0,41 g Trockensubstanz =  $0,41 \times 100 : 31 = 1,32$  g Hefe von 31 Proz. Trockensubstanzgehalt. Die Hefe hatte also binnen 3 Tagen einen Zuwachs von 32 Proz. erhalten. Einige weitere Versuche der gleichen Art ergaben dasselbe Resultat.

2. Ein anderer Versuch war mit folgender Nährlösung angesetzt:

100 ccm Brunnenwasser,  
5 g Pepton,  
0,1 g Monokaliumphosphat,  
0,1 g Bittersalz.

Dazu wurde 1 g frische Hefe von 0,31 Proz. Trockensubstanzgehalt gebracht.

Um die Fäulnis zu verhindern und die Atmung der Hefe zu ermöglichen, wurde 3 Tage lang Luft von 18 Grad (nach vorausgehender Reinigung von Keimen und Ammoniak durch Einleiten in konzentrierte Schwefelsäure und darauffolgender Waschung in sterilem Wasser) durchgeleitet.

Nach drei Tagen war noch keine Fäulnis eingetreten.

Nun wurde der Versuch beendet und die Hefe, die sich schließlich vermehrt hatte, auf ein Filter gebracht, dann ausgewaschen.

Nach dem Trocknen bis zur Gewichtskonstanz ergab sich 0,7 g Rückstand, d. i. eine Vermehrung von 1 g Hefe auf 2,26 g oder um 126 Proz.

Man sieht aus diesen paar Beispielen, wie sehr die Assimilationsenergie der Hefe jener der grünen Pflanzen überlegen ist. Bei diesen berechnet sich auf 3 Tage eine Trockensubstanz-Zunahme von 5 bis 15 Proz., während die Hefe binnen 3 Tagen um 32 Proz. bei Zuckerernährung und 126 Proz. bei Peptonnahrung zunimmt.

Man könnte einwenden, daß die grünen Pflanzen die so schwierige Kohlensäure-Assimilation oder die Assimilation von Glycerin, eines Stoffes von Nicht-Kohlenhydratnatur, zu leisten hatten. Dafür stand ihnen aber auch das Licht zu Gebote, dessen Kraft die Hefe nicht zu benutzen vermag.

Ernährungskraft von Fäulnisprodukten, Harnstoff usw.  
Zusammenhang derselben mit der chemischen Struktur.

Die organische Ernährung grüner Pflanzen ist eine Frage von nicht untergeordneter Bedeutung.

Denn fürs erste hat daran die Landwirtschaft ein bedeutendes Interesse.

Einige Zeit wurde die organische Ernährung der landwirtschaftlichen und anderer grüner Pflanzen überhaupt in Abrede gestellt.

Letztere sollten nur Kohlensäure zur Bildung organischer Substanz verwenden.

Das ist entschieden zu weit gegangen.

Jos. Böhm, dann W. Schimper und Arthur Meyer, ferner Klebs, dann O. Loew, Cremer, Verf. u. a. haben gezeigt, daß grüne Pflanzen, Kartoffeltriebe und andere Blütenpflanzen aus verschiedenen Zuckerarten, wenn diese von außen zugeführt werden, Stärke bilden, und daß dieser Prozeß auch im Dunkeln vor sich geht.

Den Zuckerarten schließt sich das Glycerin an. Es geht verhältnismäßig leicht innerhalb der Pflanzenzelle in Stärke über.

Im Vorstehenden wurde gezeigt, daß auch grüne Blütenpflanzen, wie der Kohl, das Glycerin zur Ernährung benutzen können.

Ebenso den Methylalkohol, das Methylal.

Aber auch zahlreiche andere Stoffe können assimiliert werden.

Freilich ist das bisher oft nur an Algen ausprobiert worden.

Die Fähigkeit der Algen und anderer grüner Pflanzen, organische Stoffe aller Art zu verarbeiten, ist geradezu staunenswert.

So können Spirogyren aus Essigsäure, einem der Fäulnisprodukte, Stärke fabrizieren.

Stellt man sich aus Eisessig eine 0,1-proz. Essigsäure her und neutralisiert die saure Lösung mit Kalkwasser, so erhält man eine Nährflüssigkeit, in welcher Spirogyren binnen zwei Tagen bei Lichtzutritt und unter Ausschluß von Kohlensäure Stärke speichern.

Setzt man gleichzeitig einen Kontrollversuch mit reinem Wasser an, so bilden die Spirogyren in diesem keine Stärke.

Ferner zeigt schon das makroskopische Aussehen der beiderlei Algen, daß in einem Falle Ernährung stattfindet, im andern nicht.

Die mit essigsauerm Kalk ernährten Algen wachsen, breiten sich in der Flüssigkeit aus, die andern knäueln sich zusammen, als ob der eine Faden von den andern, d. h. den in ihm angehäuften aus, im beim Absterben austretenden Nährstoffen leben wollten.

Das Resultat mit Essigsäure ist deswegen besonders bemerkenswert, weil die Essigsäure unter den Fäulnisprodukten auftritt und somit im Boden vorhanden sein muß, wenn eine Fäulnis von Pflanzen- oder Tierüberresten stattfindet, was im bebauten Boden ein tagtäglicher Vorgang ist.

Die Neutralisation mit Kalk tritt dort ebenfalls ein, da der Kalk zu den häufigsten Bodenbestandteilen gehört.

Andere, bei der Fäulnis auftretende flüchtige Fettsäuren, wie Buttersäure und Baldriansäure, vermögen den Algen ebenfalls als Nahrung zu dienen, wie Verf. früher gezeigt hat (Chem. physiol. Beitr. z. Frage d. Selbstreinigung der Flüsse. Chemikerztg. 1893). Die Säuren wurden ebenfalls 0,1-proz. angewendet und mit  $\text{Ca(OH)}_2$  neutralisiert. Stärkebildung in den Spirogyren trat auf.

Auch Milchsäure gehört zu den Fäulnisprodukten.

0,1-proz. Lösung wurde mit Kalkwasser neutralisiert.

Hineingesetzte Spirogyren zeigten binnen 2 Tagen Stärkeansatz, trotz völligen Kohlensäureausschlusses.

Bernsteinsäure, eine weitere, bei der Fäulnis auftretende Fettsäure, ergab bei gleicher Versuchsanstellung ebenfalls positives Resultat.

Auch in 0,1 Proz. Zitronensäure, mit Kalkwasser neutralisiert, setzten die Spirogyren, trotz Kohlensäureausschluß, Stärke an.

Weinsäure gibt als Calciumbitartrat gleichfalls Stärkebildung in Spirogyren-Zellen.

Calciumbimalat ebenfalls (Verf., Chem.-Ztg. 18. 1899. No. 2).

Aus der Reihe der Amidokörper, die bei der Fäulnis auftreten, wurden Glykokoll, Tyrosin und Leucin vom Verf. geprüft.

Aus ihnen bilden Algen reichlich Stärke.

Auch Asparaginsäure, Hydantoin, Urethan, Kreatin, Betain und Ucurin-Salze wirken ernährend (O. Loew u. Th. Bokorny, Chem. physiol. Studien über Algen. Journ. prakt. Chem. Bd. 36). Die betr. Versuche seien wegen ihres Interesses für vorliegende Frage wörtlich zitiert:

„Schon vor mehreren Jahren versuchten wir, *Vaucheria* und *Spirogyra* mit Pepton, Asparaginsäure oder Glycerin zu ernähren.

Um die Assimilationstätigkeit für Kohlensäure hierbei auszuschließen, wurden die Versuche im Dunkeln angestellt.

Jedoch stellte sich bei allen diesen Versuchen sehr bald eine große Menge von Spaltpilzen ein, welche durch ihre intensive Tätigkeit die Algen schädigten und nach mehreren Wochen zum Absterben brachten, entweder durch Säurebildung aus diesen Nährstoffen (aus Glyzerin), oder durch Ammoniakabspaltung (aus Pepton und Asparaginsäure).

Nun versetzten wir eine Portion Algen in 1-promille Lösung von Asparaginsäure, unter Zusatz einer Spur von Magnesiumsulfat, Monokaliumphosphat und Eisenphosphat, brachten sie ins Dunkle und erneuerten jeden zweiten Tag die Lösung vollständig (d. h. die Algen wurden herausgenommen, abgewaschen und in frische Nährlösung gebracht).

Bei dieser Behandlung blieben sie vollständig gesund, obwohl sie gar keinen Stärkemehlvorrat mehr besaßen, während sie unter gewöhnlichen Umständen nach Aufzehrung ihres Stärkevorrats dem Hungertod verfallen.

In diesem Falle ist der ernährende Einfluß der Asparaginsäure evident.

Die Zellen erlangten eine Breite von 48 Mikromillimeter und eine Länge von 220 Mikromillimeter, während sie ohne Asparaginsäure 30 Mikromillimeter und 150 Mikromillimeter maßen.“

Läßt man organische Materien bei Zutritt von Licht mit Algen in Berührung, so gedeihen letztere viel besser.

Die Vermehrung der Algen ist eine beträchtliche, wenn dem Kulturwasser 0,1-proz. Asparaginsäure zugesetzt wird, und dabei sind die Algen in außerordentlich kräftigem Zustande, von schönem Aussehen.

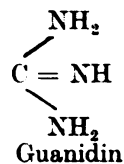
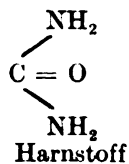
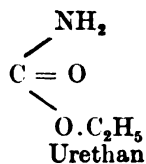
Auch in einer Lösung von 0,1-proz. Bernsteinsäure leben die Algen ohne Störung fort, jedoch ohne beträchtliche Vermehrung zu zeigen; nur die Stärkekörner machen sich durch bedeutende Größe bemerklich.

In Äpfelsäure oder Cumalinsäure von derselben Stärke starben die Algen schon nach etwa 24 Stunden, was mit dem stärker sauren Charakter dieser Säuren zusammenhängt (bei Cumalinsäure kann auch deren leichte Einwirkung auf Amido-Gruppen [im Eiweiß] in Betracht kommen).

Bei zehnmal größerer Verdünnung werden indessen auch diese Säuren ertragen.

Ebenso nimmt der schädliche Einfluß zu, wenn in einer Substanz durch Eintritt stickstoffhaltiger Gruppen die Alkalizität zunimmt.

Sehr lehrreich ist in dieser Beziehung ein Vergleich von Urethan, Harnstoff und Guanidin:

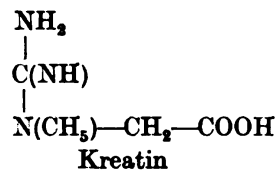
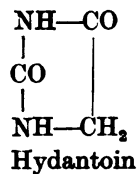


Setzt man Algenfäden in 0,1-proz. Lösungen dieser Stoffe in Quellwasser, so nehmen sie bei Urethan auch nach Wochen nicht den geringsten Schaden.

Bei Harnstoffzufuhr kränkeln sie nach einigen Tagen, bei Guanidin-Ernährung sterben sie unter Granulations-Erscheinungen schon nach einigen Stunden ab.

Treten in die Moleküle des Harnstoffs oder Guanidins Säuregruppen ein, die den alkalischen Charakter abschwächen, so verschwindet auch

wieder die schädliche Wirkung, wie Versuche mit Hydantoin und Kreatin ergaben:



Nach fünftägiger Einwirkung von 0,2 proz. Lösungen von Kreatin, Hydantoin, Urethan, Leucin, Sulfoharnstoff und Harnstoff stellte sich ein sehr bemerkenswerter Unterschied in der Wirkung der einzelnen Stoffe heraus:

Die in Kreatin und Hydantoin-Lösung gewesenen Algen hatten bedeutend an Masse zugenommen, die in Urethan und Leucin erwiesen sich als vollkommen gesund, waren aber nicht so gewachsen.

Die in Harnstoff- und Sulfoharnstofflösung gewesenen Algen zeigten keine Massenzunahme und ergaben folgenden mikroskopischen Befund:

Bei Harnstoff waren die Fäden meist dem Tode nahe; die Chlorophyllbänder waren stärkeleer, ohne Zacken und zusammengeschrumpft, öfters zerrissen; das farblose Plasma war meist intakt, manchmal kontrahiert, nur hier und da (sehr selten) granuliert. Die schädliche Einwirkung kann also hier nicht, oder nur zum kleinsten Teil, auf Ammoniakabspaltung zurückgeführt werden.

Die Algen in 0,2 % Sulfoharnstoff waren ebenfalls meist dem Tode nahe, zeigten aber in vielen Zellen noch Stärkemehlgehalt.

Der günstige Effekt des Kreatins und Hydantoinen ist ohne Zweifel der im labilen Zustand darin enthaltenen  $\text{CH}_2$ -Gruppe zuzuschreiben.

Während Guanidin, Harnstoff und Sulfoharnstoff, wegen mangelnder  $\text{CH}_2$ -Gruppe, nicht nur nicht ernähren, sondern infolge ihrer basischen Natur auch schädliche Wirkung äußern, können viele andere organische Stoffe von Algen oder Pilzen ertragen werden, ohne zur Ernährung zu dienen, z. B. pikrinsaures und nitranilsaures Kali in 0,05 proz. Lösung. Im Lichte bleiben die Algen in deren Lösungen am Leben, im Dunkeln aber sterben sie bald des Hungertodes. Ähnlich verhält es sich mit den Pilzen gegenüber Pyridinsalzen und Amidobenzoësäure, während phenylelessigsaure Salze wieder zur Ernährung beitragen können, wegen der vorhandenen  $\text{CH}_2$ -Gruppe,

Ohne Zweifel können auch solche Stoffe, welche unter Wasseraufnahme die  $\text{CH}_2$ -Gruppe zu bilden fähig sind, zur Ernährung beitragen.

Man sieht, wie die Ernährungskraft der organischen Stoffe mit der chemischen Konstitution derselben zusammenhängt.

Es gibt zweifellos eine große Zahl von organischen Stoffen, welche auch grüne Pflanzen zu ernähren vermögen.

Nur ist bei höheren Pflanzen der Beweis nicht so leicht zu erbringen, wie bei Spirogyren. Die Versuche dauern dort viel länger.

Trotzdem wäre es eine dankenswerte Arbeit, den Beweis in ähnlicher Weise, wie oben angegeben, auch bei Blütenpflanzen zu führen.

Verf. konnte wegen Mangel an Zeit nur für wenige organische Stoffe die Ernährungsfähigkeit bei einigen Topfpflanzen und bei Wasserkulturen aus dem Kreise der phanerogamen Kulturpflanzen experimentell nachweisen.

Sicherlich gelingt es auch bei anderen Stoffen und Pflanzen.

Das sich daran knüpfende Interesse ist ein doppeltes.

Fürs erste ein rein physiologisches, indem damit die Kluft zwischen

grünen Pflanzen und Pilzen immer mehr überbrückt wird und auch die Ernährung der Kulturpflanzen in weiterem Gesichtskreis als bisher betrachtet wird.

Fürs zweite ein praktisches, weil auf der organischen Ernährbarkeit der Kulturpflanzen auch ein besseres Verständnis der Vorteile eines guten Humusbodens angebahnt wird.

Verf. ist durchaus nicht der Meinung, daß sich damit allein die gute Wirkung des Humusbodens erklären lasse.

Denn die feine Verteilung des Bodens spielt sicherlich auch eine große Rolle.

Nichts aber hindert uns, anzuerkennen, daß auch die organischen Stoffe des Bodens, speziell die oben genannten organischen Fäulnisprodukte, zu dieser vorteilhaften Wirkung beitragen, wenn auch bei Kulturpflanzen der Nachweis erbracht wird<sup>1)</sup>, daß jene Stoffe Nährstoffe für sie sind.

Die Fäulnis liefert noch mehr Zersetzungsprodukte, als im vorausgehenden angegeben wurde.

Ich finde in der Literatur als gewöhnliche Fäulnisprodukte angegeben:

Ammoniak, Kohlensäure, Schwefelwasserstoff, Wasserstoff, Schwefelsäure, Essigsäure, Buttersäure, Baldriansäure, Leucin, Tyrosin, Glykokoll, Indol, Skatol, Skatolkarbonsäure, Hydrozimmtsäure, Phenyllessigsäure, Phenol.

Was die Quantitäten anlangt, so fand Nencki, daß käufliches Eieralbumin bei achttägiger Fäulnis 11 Proz. Ammoniak, 35,65 Proz. Buttersäure, 3,35 Proz. Leucin, 5,37 Proz. Kohlensäure bildet.

Leim lieferte bei 4 tägiger Fäulnis 9,48 Proz. Ammoniak, 24,2 Proz. flüchtige Fettsäuren (Essigsäure, Buttersäure, Baldriansäure), 12,2 Proz. Glykokoll, 19,4 Proz. Leimpepton, 6,45 Proz. Kohlensäure.

Je länger die Zersetzung dauerte, desto mehr überwog die Essigsäure.

Was das Ammoniak anlangt, so ist dasselbe bekanntlich ein wichtiger, zur Eiweißbildung dienender Nährstoff.

Die Kohlensäure wird assimiliert, in Kohlehydrat und Eiweiß verwandelt.

Der Schwefelwasserstoff dient zur Eiweißbildung.

Bezüglich des Wasserstoffes ist eine Verwendung in grünen Pflanzen nicht nachgewiesen.

Schwefelsäure (neutralisiert durch die Basen des Bodens) ist zur Eiweißbildung verwendbar.

Die flüchtigen Fettsäuren, Essigsäure, Buttersäure, Baldriansäure, dienen als Kohlenstoffnahrung.

Tyrosin.

Glykokoll.

Indol, Skatol, Skatolkarbonsäure, Hydrozimmtsäure.

Phenyllessigsäure ist zu giftig, um ernähren zu können.

Phenol wird nachgewiesenermaßen von grünen Pflanzen (Algen) assimiliert; vermutlich auch von grünen Blütenpflanzen.

Es befinden sich somit unter den Fäulnisprodukten wenige, die von grünen Pflanzen nicht verwertet werden.

<sup>1)</sup> Das ist zum Teil schon geschehen.

Selbstverständlich kann durch Häufung der Fäulnisprodukte bei manchen derselben eine solche Konzentration herbeigeführt werden, daß eine schädliche Wirkung eintritt (z. B. durch Fäulnis größerer Tierkadaver).

Gerade die quantitativ am meisten hervortretenden Produkte, die flüchtigen Fettsäuren, von denen wiederum Essigsäure mit der Zeit am meisten hervortritt, können zur Pflanzenernährung dienen; letztere ist sogar eine vortreffliche Kohlenstoffquelle.

Wenn man bedenkt, daß bei manchen Kulturpflanzen ein beträchtlicher Teil des gewachsenen Pflanzenmaterials in der Erde verbleibt oder als Strohdünger wiederum in den Kulturboden gebracht wird, so kann man die Gesamtmengen der assimilierbaren, im Boden vorhandenen Fäulnisprodukte einigermaßen berechnen.

---

### Referate.

**Wehmer, A.,** Versuche über die Bedingungen der Holz-ansteckung und -zersetzung durch *Merulius*. (Hausschwammstudien. IV, V.) (Mykol. Centralbl. Bd. 3. p. 321—332; Bd. 4. 1914. p. 241—252, 287—299.)

Die Versuche dienen hauptsächlich dazu, zu beweisen, daß abgerissene Mycelflocken des Hausschwammes oder Sporen Holz im allgemeinen nicht zu infizieren vermögen, wenn nicht ganz besondere Bedingungen vorhanden sind. Dagegen infiziert das fortwachsende Schwammmycel eines lebenskräftigen Exemplares das Holz sofort. Um zu seinen Resultaten zu gelangen, hat Verf. sehr zahlreiche Experimente ausgeführt und alle möglichen Bedingungen ausprobiert. Er schildert diese Versuche ausführlich, aber es würde hier zu weit führen, darüber genaueren Bericht zu geben. Deshalb seien die allgemeinen Resultate hier wiedergegeben, die Verf. zusammengestellt hat:

Die Infektion mit Mycelstückchen gelingt nur unter ganz bestimmten Bedingungen; die Mycelhyphe ist also nicht ohne weiteres gegen Holz infektionstüchtig. Die Lebensfähigkeit des Mycels wurde besonders geprüft. Unter natürlichen Verhältnissen im Keller oder Laboratorium gelingt die Infektion von feuchtem oder lufttrockenem Holz nicht, wohl aber gelingt sie unter künstlichen Bedingungen, wenn das Holz genügend Wassergehalt besitzt und die Infektionsfläche keine Fremdorganismen aufweist. Gerade die Anwesenheit von Mikroorganismen, wie Hefe und Bakterien, läßt die Infektion stets mißlingen, weil die Schwammfäden überwuchert werden.

Das Alter und der Reifezustand des Holzes ist wichtig. So ergibt frischer Splint und altes Kernholz ganz verschiedene Resultate, die allerdings durch Tränkung des Holzes mit Nährlösung ausgeglichen werden können. Ebenso ist die Substratfeuchtigkeit wichtig, während die Luftfeuchtigkeit für die Infektion keine so große Rolle zu spielen scheint. Je feuchter das Substrat, um so besser die Entwicklung.

Die Sporen infizieren unter denselben Bedingungen wie die Mycelstücke. Feuchte Kellerluft genügt allein nicht, sondern es muß auch die keimfreie Infektionsfläche für die auskeimenden Sporen vorhanden sein. Diese Keim-

freiheit kommt aber unter gewöhnlichen Verhältnissen nicht vor, so daß es ziemlich ausgeschlossen erscheint, daß von den Sporen eine Ansteckung ausgehen kann.

Dagegen ist das mit seinem Muttermycel in Verbindung stehende Randmycel jederzeit infektionstüchtig. Der fortwachsende Rand vermag also stets, Holz anzustecken, wobei es gleich ist, ob das zu infizierende Holz feucht oder lufttrocken ist. Es scheint also, als ob die von ihrer Verbindung losgetrennten Mycelstücke ihre Infektionskraft verlieren, wenn sie auch ihre Lebensfähigkeit behalten. Die unbeschränkte Ansteckungsfähigkeit besitzt also nur der intakte Rasen. Für die Praxis scheint deshalb in erster Linie das vorerkrankte Holz gefährlich zu sein, denn von ihm aus geht die Infektion des gesunden Holzes in erster Linie aus. **Lindau** (Berlin-Dahlem).

**Nowotny, R.**, Zur Wirksamkeit des Kreosotöles in imprägnierten Hölzern. (Österr. Chem. Zeitg. 16. 1913. p. 91.)

Da Kreosotöl ein kompliziert zusammengesetzter Körper ist, der durchs Lagern des imprägnierten Holzes in der Erde sicher noch unbekannte Veränderungen erleidet, läßt sich von vornherein nicht sagen, welchem bestimmten Bestandteile dieses Öles die pilzzerstörende oder konservierende Wirkung zukommt. Nach Verf. üben diese Wirkung aus die Phenole, das Acridin und Naphthalin. Die Tränkung des Holzes erfolgt bekanntlich mit viel Teeröl; auf diesem Überschuß des Antiseptikums beruht der gute Erfolg der Kreosotierung. **Matouschek** (Wien).

**Atkins, W. R. G.**, Oxydases and their inhibitors in plant tissues. Part III: The localization of oxydases and catalases in some marine Algae. (Scientif. Proceed. Roy. Dublin Soc. Vol. XIV. (N. S. 11.) 1915. p. 199.)

Bei allen untersuchten maritimen Algen konnte Verf. Katalase nachweisen. Von 92 untersuchten Arten ergab 1 eine direkte Oxydasereaktion mit Guajak. Bei 6 ergab sich diese indirekt durch Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd. In 2 Fällen nur wurde eine Farbe mit  $\alpha$ -Naphthol hervorgerufen. Die Färbung beruhte nicht immer auf einer Oxydase. Die Anwesenheit des wasserlöslichen Phycophain in geringen Mengen während des Lebens und dessen Reduzierung zu einer farblosen Substanz beim Tode faßt Verf. als eine Erklärung für den oftmals diskutierten Farbenwechsel auf, wie er bei braunen Algen vorkommt.

**Boas** (Weihenstephan).

**Kligler, I. J.**, A study of the correlation of the agglutination and the fermentation reactions among the Streptococci. (Journ. of Inf. Dis. Vol. 16. 1915. p. 327—341.)

Sixty strains of Streptococci from pathogenic sources were studied as to their fermentation of lactose, saccharose, salicin, raffinose, mannite and inulin, hemolytic action, and agglutinating properties. Dilutions of 1 : 50 or over of agglutinating serum from a rabbit immunized to a strain which fermented salicin alone was found to be specific for the group of salicin fermenting strains. No cross agglutinations were obtained with strains from other groups. The same specificity was found for the other homologous strains. The agglutination reaction is apparently too specific for the differentiation of broad groups and not all the cultures of the same fermentative characters are agglutinated by their respective sera. But the fact that a serum of one fermentative type was capable of agglutinating only strains of that



particular group and not the others would indicate that the fermentation reactions tend to divide the Streptococci into broad, distinct species. The correlation of agglutination with hemolysis is not so marked as that with fermentation. The agglutination tests show that a division of the Streptococci in the basis of hemolysis is not warranted, whereas a separation according to the fermentation reactions appears to coincide more closely with their natural relationship.

A. C. Evans (Washington).

**Hall, Ivan C.**, An improved (Durham) fermentation tube. (Amer. Journ. of Publ. Health. Vol. 60. 1914. p. 1173—1177.)

A diagonally cut vial is preferable in the combination of test tube and vial known as the Durham fermentation tube because, particularly in the case of non-motile bacteria, the amount of gas collected is greater, it appears earlier, and in a larger number of tubes than either the square-cut vial or the Smith fermentation tube.

A. C. Evans (Washington).

**Donath, Ed.**, Zur Frage der Entstehung von Hefeeiweiß aus anorganischen Stickstoffverbindungen. (Österr. Chemiker-Zeitg. Bd. 18. 1915. p. 74.)

Verf. macht darauf aufmerksam, daß er schon 1874 in seiner Schrift „Monographie der Alkoholgärung als Einleitung in das Studium der Gärungstechnik“ auf die rein theoretisch-historischen Standpunkte bezüglich der Frage der Entstehung von Hefeeiweiß aus anorganischen N-Verbindungen aufmerksam gemacht hat. A. d. Mayer gebührt das Verdienst, in wissenschaftlicher Hinsicht die Bildung von Hefeeiweiß mittels anorganischer Ammoniakverbindungen endgültig festgestellt zu haben.

Matouschek (Wien).

**Hanzawa, J.**, Studien über einige Rhizopus-Arten. (Mykolog. Centralbl. Bd. 5. 1914. p. 230—246; 1915. p. 257—287.)

Verf. gibt zuerst eine Übersicht über die von ihm beobachteten Arten:

A. Kein Wachstum bei 37°; ohne nennenswertes Verzuckerungs- und Gärvermögen; Sporangien und Sporen sehr groß.

1. *R. nigricans* Ehrenb.

B. Gutes Wachstum bei 37°; ± entwickeltes Verzuckerungs- und Gärvermögen; Sporangien und Sporen klein.

a) Sporangien auch bei niedriger Temperatur (mesophil).

I. Keine oder sehr spärliche weißliche sterile Luftmycelien auf der Sporangien-schicht.

1. Wächst hoch (2—6 cm), Sporangien-schicht locker.

2. *R. nodosus* Namysl.

2. Wächst niedrig (1—2 cm), Sporangien-schicht dicht.

†) Rasen schwarz, Sporen verhältnismäßig gleichartig.

3. *R. tritici* Saito.

††) Rasen braun, Sporen ungleichartig groß (pathogen).

4. *R. kasanensis* Hanz.

II. Mit reichlichen, sterilen Luftmycelien auf der Sporangien-schicht.

1. Vergärt Raffinose (pathogen).

5. *R. Trubini* Hanz.

2. Vergärt nicht Raffinose.

6. *R. Usamii* Hanz.

b) Keine Sporangien bei niedriger Temperatur (thermophil).

I. Wächst sehr kümmerlich, nur dünne Mycelhaut und bildet keine oder nur wenige Sporangien auf Würze (16° Balling).

1. Vergärt Raffinose.
2. Vergärt nicht Raffinose.
- II. Wächst gut und bildet viele Sporangien auf Würze (16° Balling).
  1. Columellen klein (unter 70  $\mu$ ).
  2. Columellen groß (bis über 70  $\mu$ ).
    - †) Vergärt Raffinose.
    - ††) Vergärt nicht Raffinose.
      - a) Wächst auf Würze lang, locker und dunkler.
      - b) Wächst auf Würze kurz, dicht und heller.
7. *R. oryzae* Went et Pr. Geerl.
8. *R. arrhizus* Fisch.
9. *R. chinensis* Saito;
10. *R. japonicus* Vuill.
11. *R. tonkinensis* Vuill.
12. *R. batatas* Nakazawa.

Nachdem der Verf. diese Pilze ausreichend charakterisiert und beschrieben hat, will er vor allen Dingen seine Resultate zusammenstellen, die sich aus der Infektion von anderen Dingen ergeben haben. In dem 2. Teil stellt er dann das Physiologische zusammen. 1. Temperaturverhältnisse. Bei Zimmertemperatur keimten alle Arten gleichmäßig und fruktifizierten in Sporangien. Bei niedriger Temperatur (8—10°) wurden die meisten Arten zwar entwicklungsfähig, aber sie trieben keine Sporangien mehr, mit Ausnahme von *R. nigricans*, der gut fruktifizierte. Bei Bluttemperatur (35—37°) wuchsen alle übrigen Arten, nur *R. nigricans* nicht. 2. Gärversuche. Durch solche Gärversuche wurden die meisten Arten sehr gut charakterisiert, da alle Arten ganz ausgezeichnet wuchsen. 3. Würze-, Hänge-, Gelatine-, Milch-, Würzeagar-, Peptonwasser-, Stärkekleisterkulturen. Die Übersicht über diese Kulturen gibt der Verf. in besonderen Gärtabellen. 4. Ansteckungsversuche mit Früchten und Blättern. Diese Versuche waren besonders interessant, denn Verf. infizierte nicht bloß Tomaten, Citronen und Apfelsinen, sondern auch Äpfel, diese allerdings negativ. Ferner wurden die lebenden Blätter von Lactuca, Spinat, Gerstenkeimlinge, junge Spargelschosse infiziert, aber negativ. Dagegen gelang die Infektion spärlich an Gurken. 12. Impfversuche mit weißen Mäusen. Diese Infektionen fielen negativ aus.

So sehen wir, daß das Bild der einzelnen Arten auch durch die Untersuchungen Hanzawa durchaus nicht etwa glatt hervortritt, sondern das merkwürdige Verhalten der Art zeigt sich niemals ganz einseitig, sondern täuscht häufig durch Übergänge zu anderen Arten. Man wird sich deshalb zunächst auf das Festgestellte zu beschränken haben, um dann allmählich durch Hinzunahme der Entwicklungsgeschichte und der Sexualorgane vielleicht zu besseren Unterscheidungen zu kommen.

G. Lindau (Dahlem).

## Neue Literatur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Oberbibliothekar der Kgl. Bibliothek in Berlin.

### Allgemeines, Lehrbücher usw.

Bericht der Schweizerischen Versuchsanstalt f. Obst-, Wein- u. Gartenbau in Wädenswil f. d. Jahr 1913 u. 1914. Erstattet v. H. Müller-Thurgau. (Landw. Jahrb. d. Schweiz 1915. Jg. 29. H. 5. p. 467—610.)

Dafert, F. W. u. Kornauth, Karl, Bericht über die Tätigkeit der k. k. landw.-chemischen Versuchsstation und der mit ihr vereinigten k. k. landw.-bakteriologischen und Pflan-

zenschutzstation in Wien im Jahre 1915. Wien u. Leipzig (Frick) 1916. 65 p. 8°.  
(Aus: Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich. 1916. p. 161—225.)

**Hoffmann, M.**, Die Bakteriologie im Dienste der Teichdüngung. (Mitt. d. Deutschen Landw.-Gesellsch. Bd. 24. 1916. p. 388—392. Mit 3 Abbild.)

**Kühl, Hugo**, Arbeiten aus dem Nahrungsmitteluntersuchungsamt der Stadt Kiel. (Deutsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. 1915. H. 4. p. 367—372.)

### Untersuchungsmethoden, Instrumente usw.

**Abel, Rud.**, Bakteriologisches Taschenbuch. Die wichtigsten technischen Vorschriften zur bakteriologischen Laboratoriumstechnik. 19. Aufl. Würzburg (Kabitzsch) 1916. VI, 140 p. 8°. 2,50 M.

**Adler, Ludwig**, Über die Ammoniakbestimmung nach der Borsäuremethode. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 44. 1916. No. 26. p. 219—221.)

**Fulmek, Leopold**, Spritztechnik. Allerlei Wissenswertes über Geräte und Mittel. (Mitt. d. k. k. landw.-bakteriol. u. Pflanzenschutzstation in Wien. 1916. 52 p. 8°. 11 Fig.)

**Geiger, A.**, Einheitliche Methoden für die chemische Käseuntersuchung. (Milchw. Centralbl. Bd. 9. 1916. p. 134—137.)

**Heuß, Robert**, Bemerkungen zur Entnahme und zum Versand biologischer Proben. (Ztschr. f. d. ges. Brauwes. N. F. Jg. 39. 1916. No. 19. p. 147—149.)

**Krieger, A.**, Flasche mit durchlochtem Glasrand. (Chemiker-Ztg. Jg. 40. 1916. No. 30. p. 210.)

**Liebreich, Emil**, Eine Zählkammer für zytologische und bakteriologische Zwecke. (Deutsch. med. Wochenschr. Jg. 42. 1916. No. 15. p. 453—455. 3 Fig.)

**McIntosh, James, et Fildes, Paul**, Nouvelle méthode d'isolement et de culture pour les microbes anaérobies. (Compt. rend. Soc. biol. T. 79. 1916. No. 8. p. 293—295. 2 Fig.)

**Tribondeau, L.**, Nouvelle technique de coloration des coupes par l'hémalum-éosine. (Compt. rend. soc. biol. T. 79. 1916. No. 7. p. 288—289.)

—, **Fichet, M. et Dubreuil, J.**, Procédé de coloration des liquides organiques et de leurs parasites. (Compt. rend. soc. biol. T. 79. 1916. No. 7. p. 282—287.)

**Wagner, Gerhard**, Eine Kolleflasche für doppelseitige Benutzung (zur Züchtung von Massenkulturen). (München. med. Wochenschr. Jg. 63. 1916. No. 9. p. 311—312. 1 Fig.)

**Weichardt, Wolfgang u. Wolff, Maximilian**, Über einige handliche chemische Verfahren, kleine Mengen Trinkwasser schnell zu entkeimen. (Öffentl. Gesundheitspfl. Jg. 1. 1916. p. 155—166, 193—206.)

**van Wisselingh, C.**, Über die Anwendung der in der organischen Chemie gebräuchlichen Reaktionen bei der phytomikrochemischen Untersuchung. (Folia microbiol. Jg. 3. 1915. H. 3. p. 165—198.)

### Systematik, Morphologie.

**Aharoni, J.**, Eurytoma sp., ein neuer Mandelschädling. (Der Tropenpflanzer. 1916. Bd. 19. H. 6. p. 317—322.)

**Georgevitch, P.**, De la morphologie des microbes des nodules des feuilles d'une Rubiacée, Pavetta coffra. (Compt. rend. soc. biol. T. 79. 1916. No. 10. p. 411—413. 1 Fig.)

**Lindner, P.**, Zur Kenntnis der Mikrobenflora der zuckerhaltigen Saftflüsse. I. Der Milchfluß der Bäume. (Wochenschr. f. Brauerei. 1916. No. 25. p. 193—198; No. 26. p. 205—206. 38 Fig.)

**van Loghem, J. J.**, Bacterium (Proteus) anindologenes n. sp. (Folia microbiol. Jg. 3. 1915. H. 3. p. 212—219.)

**Martin, Louis**, Description de microbes nouveaux. (Compt. rend. soc. biol. T. 78. 1915. p. 349—350.)

**Moreau, Fernand**, Sur le chondriome d'une Ustilaginée, Entyloma ranunculi (Bonorden) Schroeter. (Compt. rend. soc. biol. T. 77. 1914. No. 31. p. 538—539.)

**Oudemans, A. C.**, Notizen über Acari. (Tft. entomol. dl. 59. 1916. p. 18—54; Fig.)

**Portier, Paul, et Sartory**, Sur un Spicaria nouveau, isolé de la chenille de Cossus cossus. Spicaria cossus n. sp. (Compt. rend. soc. biol. T. 79. 1916. No. 14. p. 700—701. 1 Fig.)

—, Sur une forme du Botrytis bassiana, isolée de la chenille de Nonagria typhae. (Compt. rend. soc. biol. T. 79. 1916. No. 14. p. 702—703.)

**Sartory, A.**, Étude d'un champignon nouveau du genre Botryosporium. (Compt. rend. soc. biol. T. 79. 1916. No. 11. p. 516—517.)

**Will, H.**, Vergleichende morphologische und physiologische Untersuchungen an vier Kulturen der Gattung Pseudosaccharomyces Klöcker (Saccharomyces apiculatus Reess). (Ztschr. f. d. ges. Brauwes. N. F. Jg. 39. 1916. No. 16. p. 121—124.)

- Will, H.**, Neues über die Hefezelle. (Ztschr. f. d. ges. Brauwes. N. F. Jg. 39. 1916. No. 17. p. 131—132.)  
 —, Neues über die Hefezelle. (Ztschr. f. d. ges. Brauwes. Jg. 39. 1916. No. 27. p. 212—214.)

### Biologie.

- Barber, Marshall A.** and **Jones, Charles R.**, A test of *Coccobacillus acridiorum* d'Herelle on locusts in the Philippines. (Philippine Journ. of sc. B. trop. med. Vol. 10. 1915. No. 2. p. 163—176.)  
**Beijerinck, M. W.** u. **van Hest, J. J.**, Lebedeffs Hefemazerationssaft. (Folia microbiol. Jg. 4. 1916. H. 2. p. 107—118.)  
**Blakeslee, Albert Francis**, Sexual relations between hermaphroditic and dioecious mucors. (Biol. Bull. Marine biol. Lab. Woods Hole. Vol. 29. 1916. No. 2. p. 87—102.)  
**Blösch, Max**, Beitrag zur Untersuchung über die *Zoogloea ramigera* (Itzigsohn) auf Grund von Reinkulturen und über ihre Bedeutung für die Abwasserreinigung. (Zusammenfassung.) (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 44. 1916. No. 36. p. 301—302.)  
**Bokorny, Th.** u. **Henneberg**, Zahl und Art der Hefenenzyme. Emulsin und Myrosin in der Hefe, Lokalisation der Zymase. (München. med. Wchschr. Jg. 63. 1916. No. 34. p. 1227—1229.)  
**Coupin, H.**, Sur la résistance à la salure des Bactéries marines. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 160. 1915. No. 14. p. 443—445.)  
 —, De l'action morphogénique de la sursalure sur les Bactéries marines. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 160. 1915. No. 18. p. 608—610.)  
 —, Sur le pouvoir fermentaire des bactéries marines. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 161. 1915. No. 20. p. 597—600.)  
**Fischer, Herm.**, Über Denitrifikation in Teichen und ihre praktische Bedeutung. (Ztschr. f. Fischerei. Berlin 1916. N. F. Bd. 2. p. 1—50.)  
**Lichtenstein, Stefanie**, Über die agglutinogene Substanz der Hefezelle. (Arch. f. Anat. u. Physiol. Jg. 1915. Physiol. Abt. H. 2/3. p. 189—192.)  
**Mirande, Marcel**, Sur un nouvel hôte de l'*Uromyces lilii* (Link) Fuckel. (Compt. rend. soc. biol. T. 78. 1915. p. 530—531.)  
**Moreau, Fernand**, Sur la formation de cristalloïdes de mucorine au sein des mitochondries. (Compt. rend. soc. biol. T. 78. 1915. p. 171—172.)  
**Nowak, A.**, Über den Einfluß des Ozons auf Hefe und Bakterien. (Journ. of industr. a engineer. Chem. 1915; bespr. in Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 44. 1916. No. 24. p. 205—206.)  
**Pinoy, E.**, Nutation et coloration des Myxomycètes. (Compt. rend. soc. biol. T. 78. 1915. p. 172—174.)  
**Portier, P.**, Résistance aux agents chimiques de certaines races du *B. subtilis* provenant des insectes. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 161. 1915. No. 13. p. 397—399.)  
**Rahn, Otto**, Der Einfluß der Temperatur und der Gifte auf Enzymwirkung, Gärung und Wachstum. (Biochem. Ztschr. Bd. 72. 1916. H. 5/6. p. 351—377. 5 Fig.)  
**Zikes, Heinrich**, Über abnormale Kolonienbildungen bei Hefen und Bakterien. Ref. v. **Karl Rudolf**. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 44. 1916. No. 35. p. 296—297.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

#### Luft, Wasser, Boden.

- Gemünd, Wilh.**, Über die Selbstreinigung des Wassers durch Protozoen mit besonderer Berücksichtigung des biologischen Klärprozesses. (Hyg. Rundsch. Jg. 26. 1916. No. 15. p. 489—496.)  
**Goodey, T.**, Investigation on protozoa in relation to the factor limiting bacterial activity in soil. (Proc. R. Soc. Biol. Sc. Vol. 88. 1915. p. 437—456.)  
**Russell, Edward John**, Soil protozoa and soil bacteria. (Proc. R. Soc. Biol. Sc. Vol. 89. 1915. p. 76—82.)  
 The use of dynamite in the improvement of heavy clay soils. (Agric. experiments Stat. Manhattan, Kansas, U. St. A. Bull. No. 209, Dep. 1915; ref. in Neuha. a. d. Geb. d. Pflanzenschutz. 5—7.)  
**Thornton, H. G.**, and **Smith, Geoffrey**, On the nutritive conditions determining the growth of certain fresh-water and soil protista. (Proc. R. Soc. Biol. Sc. Vol. 88. 1914. p. 151—165. 1 Taf. u. 2 Fig.)

**Milch, Molkerei.**

- Arbeiten, Die, a. d. Gebiete d. Milchwissenschaft u. Molkereipraxis im Jahre 1914, I. Sem. Sammelreferat, begr. v. R. W. Raudnitz, fortgeführt v. W. Grimmer. 19. Heft. 47 p. gr. 8°. Wien (F. Deuticke) 1915. (Abdruck aus: Monatsschr. f. Kinderheilk.)
- Ayers, S. H. u. Johnson,** Vergleich zwischen der Pasteurisation von Milch in Flaschen und der Pasteurisation von Milch vor dem Abfüllen in Flaschen. (Dep. of Agric. Washington Bull. 240; ref. in Int. agr.-techn. Rundsch. 1915. No. 10. p. 1484—1486.)
- Burri, R. u. Thaysen, A. C.,** Vergleichende Versuche über pasteurisierte und biorisierte Milch. (Milchwirtsch. Centralbl. 1916. No. 6. p. 81—86; No. 7. p. 97—106.)
- u. **Hohl, Joh.,** Keimarme Milch als Mittel zur Abklärung der Vorgänge, welche den Ausfall der Gärprobe bedingen. Zuerst erschienen in: Schweizer. Milchztg. 1916. No. 3. p. 5—8; (Molkerei-Ztg. B. 1916. No. 12. p. 89—91; No. 13. p. 97—99; No. 14. p. 105—106; No. 15. p. 113—114.)
- Duchacke, F.,** Studien über den Yoghurt-Bacillus. (Biochem. Ztschr. 1915. Bd. 70. p. 269—293; ref. in: Int. agr.-techn. Rundsch. 1915. H. 10. p. 1487.)
- Hewlett, R. Tanner, and Revis, Cecil,** On a complement-stimulating substance in cows milk. (Journ. of Hyg. Vol. 15. 1916. No. 1. p. 1—10.)
- Hering, F.,** Über die etwaige Bedeutung infizierter Milch für die Widerstandsfähigkeit der damit ernährten Individuen. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Bd. 26. 1916. H. 10. p. 151—152.)
- Lauterwald, Franz,** Merkblatt für die Gewinnung der Milch im Stalle, sowie für die weitere Behandlung auf den Höfen und für den Transport und die Anlieferung derselben zur Molkerei. (Der Landbote 1916. No. 12. p. 282—285.)
- Löhnis, F.,** Einteilung und Benennung der Milchsäurebakterien. (Milchwirtschaftl. Centralbl. 1916. H. 4. p. 49—51.)
- Die regelmäßigen Milchuntersuchungen und ihre Bedeutung für die Molkereien. (Molkerei-Ztg. H. 1916. No. 7. p. 101—103.)
- Milroy, Th. H.,** Die Reaktion der Milch und ihr Calciumgehalt als Faktoren des Gerinnungsvorganges. (The Biochem. Journal. 1915. Bd. 9. p. 215—228; ref. in: Int. agr.-techn. Rundsch. 1915. H. 10. p. 1483.)
- Niederstadt,** Die polizeiliche Überwachung des Verkehrs mit Milch in größeren Städten Deutschlands. (Öffentl. Gesundheitspf. Jg. 1. 1916. H. 4. p. 236—248.)
- Paraschschuk, S.,** Milchsäurebakterien in der Milchwirtschaft. (Milchwirtschaftl. Centralbl. 1916. H. 4. p. 51—52.)
- Quadekker, E.,** Het pasteuriseeren en bioriseeren van melk. (Tft. vergelijkende geneesk. dl. 1. 1914—1915. p. 263—272.)
- Reiß, F.,** Zur Physiologie der Milchsäuregärung reiner und gewässerter Milch. (Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1916. Bd. 31. H. 2. p. 41—45.)
- Slyke, L. L. u. Bosworth, W. A.,** Über den Zustand des in der Milch vorhandenen Kaseins und der Salze. (Ref. in: Biedermanns Centralbl. f. Agrik.-Chemie. 1916. No. 2/3. p. 133—135.)
- Tiemann,** Ist es möglich, Milch unter Wahrung des Rohmilchcharakters im laufenden Betriebe einer Dauererhitzung zu unterwerfen? (Molkerei-Ztg. Hildesheim. 1916. No. 4. p. 53; No. 5. p. 69.)

**Wein, Weinbereitung.**

- Meißner, Richard,** Die Wein- und Mostbereitung im Kriegsjahr 1916. (Der Weinbau. Jg. 15. 1916. No. 8. p. 82—85.)

**Bier, Bierbereitung.**

- Adler, Ludwig,** Über die polypeptid- und aminosäureliefernden Enzyme im Malz. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 44. 1916. No. 30. p. 251—254.)
- Baudrexel,** Hefe zur Herstellung von horn- und hartgummiähnlichen Massen (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 14. p. 108—110.)
- Bonzomski, Iv.,** Gibt es eine Mutation bei den Hefen? (Jahrb. d. Landw. Inst. Moskau. Jg. 21. 1915. 1. Buch. p. 42—136; ref. in: Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 44. 1916. No. 34. p. 286—287.)
- Goslich, Christel,** Ein eigenartiger Fall der Gelatinierung des Lagerbieres. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 17. p. 129.)
- , Entwicklung von Schleimessigbakterien auf der Flasche. Ein eigenartiger Fall der Gelatinierung des Lagerbieres. (Die Deutsche Essigindustrie. 1916. Bd. 20. p. 126—127.)

- Heuß, Robert**, Welchen Einfluß hat eine vermehrte Hopfengabe auf den Eiweißgehalt der Würze? Bedingt speziell dieses Hopfeneiweiß eine größere Schaumhaltigkeit und Haltbarkeit des Bieres? (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 44. 1916. No. 25. p. 209—211.)
- Lindner, P.**, Zur Kenntnis der Mikrobenflora der zuckerhaltigen Saftflüsse. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 25. p. 193—198; No. 26. p. 204—206. 38 Fig.)
- , Goldene Regeln der Reinlichkeit für den Brauereibetrieb. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 27. p. 209—211.)
- Mansfeld, R.**, Gefäße zum Herführen von Reinzuchthefer in der Kriegszeit. (Ztschr. f. d. ges. Brauwes. N. F. Jg. 39. 1916. No. 5. p. 35—36.)
- , Brauereibiologische Erfahrungen aus der Kriegszeit. (Ztschr. f. d. ges. Brauwes. N. F. Jg. 39. 1916. No. 8. p. 60—62; No. 9. p. 68—70.)
- Moufang, Ed.**, Die Eiweißfrage — ein Märchen. (Vorl. Mitteil.) (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 44. 1915. No. 31. p. 261—262.)
- Mumme, P.**, Gärbottichkontrolle und Beseitigung von Gärbottichinfektionen. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 17. p. 129—131.)
- Runck, K.**, Weitere Beiträge zur Geschichte des Bieres. (Ztschr. f. d. ges. Brauwes. N. F. Jg. 39. 1916. No. 9. p. 65—68. 1 Fig.)
- Schönfeld, F.**, Die zur Bierbereitung zu verwendenden Zucker. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 13. p. 97—99.)
- u. **Krumhaar, H.**, Über das Schicksal der Monohexosen auf den Werdegang des Bieres. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 11. p. 81—84.)
- —, Die Monohexosen bei der Gärung. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 19. p. 145—147; No. 20. p. 156—158.)
- —, Die Zucker in den gesüßten Bieren. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 23. p. 177—178.)
- Schuster, R.**, Karbonisieren des Bieres. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 15. p. 115—116. 3 Fig.)
- Stockhausen, F. u. v. Kalkstein, G.**, Biologische Mitteilungen. Welchen Nachteil hat ein hoher Keimgehalt der Anstellwürze? (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 26. p. 201—202; No. 28. p. 217—221; No. 29. p. 225—228; No. 31. p. 241—245; No. 32. p. 249—251; No. 33. p. 257—259.)
- Vogel, Ernst**, Die Herstellung von Kriegsbier. (Ztschr. f. d. ges. Brauwes. N. F. Jg. 39. 1916. No. 23. p. 177—179.)
- Will, H.**, Beobachtungen über das Vorkommen lebens- und vermehrungsfähiger Zellen in sehr alten Würzekulturen von untergärigen Zellen. (Ztschr. f. d. ges. Brauwes. N. F. Jg. 39. 1916. No. 24. p. 185—186; No. 25. p. 194—196.)
- Wüstenfeld, H.**, Gärbeschleunigung durch gewisse Stoffe — bewegte Gärung — gefesselte Gärung. Eine kritische Betrachtung (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 12. p. 89—90.)

#### Fleisch.

- de Jong, D. A.**, De oorzaak de vleeschvergiftigingen. (Tfd. vergelijkende geneesk. dl. 1. 1914—15. p. 113—121.)
- Martin, Otto**, Die Herstellung und Haltbarkeit der geräucherten Fischwaren. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1916. Bd. 26. No. 10. p. 147—151.)
- Reuter, M.**, Das Gefrierfleisch und seine Behandlung. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1916. Bd. 26. No. 12. p. 177—180.)
- Standfuß, Rich.**, Über die Untersuchung und Beurteilung von Fleischkonserven. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1916. Bd. 26. H. 13. p. 193—196; H. 14. p. 209—213.)
- Zwart, S. G.**, Vleeschvergiftigingen? (Tft. vergelijkende geneesk. dl. 1. 1914—1915. p. 323—330.)

#### Andere Nahrungsmittel.

- Fendler, G.**, u. **Borinski, P.**, Nährhefe als Nahrungsmittel. (Deutsche med. Wochenschr. Jg. 42. 1916. No. 22. p. 670—671.)

#### Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion usw.

- Baertz, G.**, Eine Neuerung auf dem Gebiete der Abwasserreinigung. Oms-System D.R.P. (Gesundheits-Ingenieur. Jg. 39. 1916. No. 17. p. 97—98. 3 Fig.)

#### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

##### Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Bos, J. Ritzema**, De nederlandse phytopathologische (plantenziektenkundige) vereniging, 1891—1916. (Tft. plantenziekten. Jg. 22. 1916. p. 54—83.)

- Brož, Otto**, Aufgesprungene Früchte. (Mitt. d. k. k. landw.-bakteriol. u. Pflanzenschutzstat. Wien II., Trunnerstr. 1. 1916. 4 p. 4 Fig.)
- Buchwald, Joh.**, Überfeuchtetes Getreide. (Ztschr. f. d. ges. Getreidewes. 1916. No. 4/5. p. 57—70.)
- Eriksson, Jakob**, Sur la réapparition du mildiou (*Phytophthora infestans*) dans la végétation de la pomme de terre. (Compt. rend. Acad. sc. T. 163. 1916. No. 4. p. 97—100.)
- Fulmek, Leopold**, Die Kirschblattwespe (*Caliroa cerasi* L.). (Mitt. d. k. k. Pflanzenschutzstat. Wien 2, Trunnerstr. 1. 1916. 4 p. 8°. 2 Fig.)
- , Die Birngallmücke. (Mitt. d. k. k. Pflanzenschutzstat. Wien 2, Trunnerstr. 1. 1916. 2 p. 8°. 4 Fig.)
- Heinrich, M.**, Versuche zur Verbesserung dumpfigen Getreides. (Die landw. Versuchstation. 1916. Bd. 88. No. 5/6. p. 399—431.)
- Heß, Rich.**, Der Forstschutz. Ein Lehr- u. Handbuch. 4. Aufl. Bearbeitet von R. Beck. Lex. 8°. Leipzig (Teubner). Bd. 2: Schutz gegen Menschen, Gewächse u. atmosphär. Einwirkungen. XII, 461 S. m. 133 Abb. u. 1 schwarzen Taf. 1916. *N* 14.
- Hiltner**, Der Kornfraß, verursacht durch den Getreideblasenfuß. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. 1916. H. 6/7. p. 68—70. Mit 1 Abbild.)
- , Über das Auftreten des Gelbrostes am Weizen und am Roggen, nebst einigen allgemeinen Bemerkungen über die Notwendigkeit, eine bessere Organisation für Pflanzenschutz zu schaffen. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. 1916. H. 6/7. p. 65—68.)
- Kleine**, Stärkeres Auftreten des schwarzen Aaskäfers in Pommern. Pommernblatt. Stettin 1916. No. 22. p. 381—382.)
- Krause, Fritz**, Die Moniliakrankheit der Obstbäume. (Der prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1916. No. 30. p. 233—234. Mit Abbild.)
- , Giftige Futterunkräuter. (Berliner Tierärztl. Wochenschr. 1916. No. 23. p. 272—274; No. 24. p. 284—286.)
- Lang, W.**, Das starke Auftreten des Gelbrostes. (Württemberg. Wochenbl. f. Landw. Jg. 1916. No. 24. p. 395—396.)
- Meißner, Richard**, Der rote Brenner. (Der Weinbau. Jg. 15. 1916. No. 7. p. 74—77.)
- Melhus, J. E.**, Germination and infection with the fungus of the late blight of potatoes (*Phytophthora infestans*). (Agron. Exp. Stat. Univers. Wisconsin. Madison Research. Bull. Aug. 1915. 64 p. 8 Fig. u. 17 Tab.; ref. in Neuherg. a. d. Geb. d. Pflanzenschutz 5—7.)
- Rau, E.**, Schmetterlingsraupen als Obstbaumschädlinge. (Schlesw.-holst. Ztschr. f. Obst- u. Gartenbau. 1916. No. 7. p. 107—111. Mit Abbild.)
- Reh, L.**, Die Kirschblütenmotte, ein sehr gefährlicher bisher unbeachteter Kirschenfeind. (Der prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1916. No. 27. p. 209—210. Mit 2 Abbild.)
- Riehm, E.**, Die Fleckenkrankheit der Bohnen und Erbsen [*Gloeosporium* (*Colletotrichum*) *lindemuthianum* Sacc. et Magn. u. *Ascochyta pisi* Lib.]. (Deutsche landw. Presse. 1916. No. 59. p. 492—493. Mit Kunstbeilage.)
- Schander**, Die wichtigsten Kartoffelkrankheiten und ihre Bekämpfung. 2. Bearbeit. 23 Abbild. 95 p. Berlin W. 9, Eichhornstr. 6. 1916. *N* —, 60. (Arb. d. Gesellsch. z. Förd. d. Baues u. d. wirtsch. zweckmäß. Verwendung der Kartoffeln, H. 4.)
- Spieckermann, A.**, Achtet auf den Kartoffelkäfer. Ersch. als Flugblatt. (Landw. Ztg. f. Westfalen. Jg. 1916. No. 23. p. 273—275. Mit 1 Abbild.)
- Sprecher, B.**, Der osmotische Druck des Zellsaftes gesunder mosaikkranker Tabakpflanzen. (Ann. du Jardin bot. de Buitenzorg. Sér. 2. Vol. 14. 1916. p. 112—128.)
- Störmer**, Große Schäden an der Gerste durch den Drahtwurm. Lebensweise und Bekämpfung des Drahtwurmes. (Pommernblatt, Stettin 1916. No. 22. p. 380—381.)
- Voges, Ernst**, Über Anpassungen und Schädigungen in der Landwirtschaft. (Deutsche landw. Presse. 1916. No. 59. p. 491; No. 60. p. 499.)
- Wehsarg, Otto**, Die Unkräuter der Hackfrüchte und ihre Bekämpfung. (Illustr. landw. Ztg. 1916. No. 45. p. 313—314.)
- , Das Schälen der Getreidestoppeln und die Bekämpfung des Unkrautes. (Illustr. landw. Ztg. 1916. No. 62. p. 415—416.)
- Zimmermann, H.**, Über Mycocecidien der Rostform *Gymnosporangium clavariaeforme* (Jacqu.) Reess auf Rotdorn. (Sitzungsber. u. Abh. nat. Ges. Rostock. N. F., Bd. 6. 1914/15. Ersch. 1916. p. 1—10.)

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

#### Pflanzenschutz.

- Béguet**, Deuxième campagne contre les sauterelles (*Stauronotus maroccanus* Thun.) en Algérie, au moyen du *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année 29. 1915. No. 10. p. 520—536.)

- Behrens**, Mäusebekämpfung durch Phosphor. (Hannov. landw. u. forstw. Ztg. 1915. p. 304—305.)
- Gebrauchsanweisung für die Verwendung von Ersatzmitteln für Kupfervitriol zur Saatgutbeizung. Merkblatt v. d. k. k. landw.-bakteriol. u. Pflanzenschutzstat. Wien. Wien 1916. 7 p. 8°. (Aus: Wiener landw. Ztg. 1916.)
- Hiltner**, Die Bekämpfung der Rattenplage. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau- u. -schutz. 1916. H. 6/7. p. 70—71.)
- Hoffmann, J. F.**, Nochmals das Globol als Insektenvertilgungsmittel. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 9. p. 69. 1 Fig.)
- Krause, Fritz**, Die Kupferkalkbrühe und Ersatzmittel dafür. (Illustr. landw. Ztg. 1916. No. 47. p. 325.)
- Müller-Augustenberg, Karl**, Beeinflußt die Nikotinbespritzung der Trauben den Geschmack des Weines? (Der Weinbau. Jg. 15. 1916. No. 8. p. 85—86.)
- Müller-Thurgau**, Zur Bekämpfung des falschen Mehltaus der Reben. (Der Weinbau. Jg. 15. 1916. No. 5. p. 50—52; Schweizer Ztschr. f. Obst- u. Weinbau.)
- Neuheiten auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes. 5.—7. Mitt. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswes. in Österreich 1916. p. 383—386.)
- Pfeil**, Wirksame Hilfsmittel im Kampf gegen die Schädlinge des Obst- und Gartenbaues. (Arb. d. Landw.-Kamm. f. d. Prov. Brandenburg. 1916. H. 42. p. 85—98.)
- Wahl, Bruno**, Bekämpfung der Spinnmilben. (Wiener landw. Ztg. 1916. No. 51. p. 334—335. Mit 1 Abbild.)
- , Bekämpfung der Erdraupen. (Mitt. d. landw.-bakteriol. u. Pflanzenschutzstat. Wien. Wien 1916. 7 p. 8°. (Aus: Wiener landw. Ztg. 1916. No. 63.)
- Wanner, A.**, Die Bekämpfung der Reblaus in Elsaß-Lothringen im Jahre 1913. (In: Verh. d. Landwirtschaftsrats von Els.-Lothr. Sess. 1914, 30. Tag. Straßburg 1915. p. 263—289. Mit 3 graph. Anl.)

## Inhalt.

## Original-Abhandlungen.

- Bokorny, Th.**, Organische Kohlenstoffernährung der Pflanzen, p. 301.
- Clark, William Mansfield**, A Study of the Eye Formation of Emmental Cheese, p. 230.
- Geilinger, H.**, Beitrag zur Biologie der Harnstoff vergärenden Mikroorganismen, mit besonderer Berücksichtigung der Anaërobiose, p. 245.
- Rippel, August**, Über den Einfluß des wechselnden Barometerstandes auf den Verlauf der alkoholischen Gärung und biologische Vorgänge überhaupt, p. 225.

## Referate.

- Atkins, W. R. G.**, Oxydases and their inhibitors in plant tissues. Part III: The localization of oxydases and catalases in some marine Algae, p. 376.

- Donath, Ed.**, Zur Frage der Entstehung von Hefeeiweiß aus anorganischen Stickstoffverbindungen, p. 377.
- Hall, Ivan C.**, An improved (Durham) fermentation tube, p. 377.
- Hanzawa, J.**, Studien über einige Rhizopus-Arten, p. 377.
- Kligler, I. J.**, A study of the correlation of the agglutination and the fermentation reactions among the Streptococci, p. 376.
- Nowotny, R.**, Zur Wirksamkeit des Kreosotöles in imprägnierten Hölzern, p. 376.
- Wehmer, A.**, Versuche über die Bedingungen der Holzansteckung und -zersetzung durch Merulius, p. 375.

Neue Literatur, p. 378.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung **Gustav Fischer** in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 9. November 1916.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.



# Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 47. No. 16|22.

Ausgegeben am 9. Juni 1917.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über sterilisierte, Backhaus-, Enzyma- und Uviol-Milch<sup>1)</sup>.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Kurt Müller †.

### I. Einleitung.

Seitdem bekannt ist, daß viele Mikroorganismen in der Milch einen ausgezeichneten Nährboden finden, hat man zahlreiche Versuche angestellt, die Mikroorganismen von der Milch fernzuhalten, oder, falls sie schon darin enthalten waren, sie abzutöten. Durch besondere Maßnahmen, die man bei der Gewinnung der Milch anwendet, sucht man ein möglichst keimarmes Produkt zu erzielen; doch ist es auch bei der größten Sorgfalt nur möglich, eine keimarme, niemals aber eine keimfreie Milch zu erhalten. Tötet man andererseits die bereits in der Milch vorhandenen Keime ab, so wird die Milch hierdurch natürlich nicht, wie oft gesagt wird, „keimfrei“; eine mit Bakterien infizierte Milch kann nicht von ihnen „befreit“, die Keime können höchstens „abgetötet“ werden. Zurzeit wird im allgemeinen die keimarme Gewinnung bevorzugt, immerhin sind auch die Milchsorten, deren Keimgehalt nachträglich durch chemische oder physikalische Mittel herabgesetzt werden soll, heute besonders für die Deckung des Bedarfs an Kindermilch von einiger Bedeutung. Ich stellte deshalb Untersuchungen über verschiedene Kindermilchsorten an, wie sie in der Stadt Leipzig zum Verkauf gebracht werden. Ehe ich auf diese näher eingehe, sei kurz das Wesentliche über die vier geprüften Milchsorten (sterilisierte, B a c k h a u s -, Uviol- und Enzyma-Milch) nachstehend zusammengefaßt.

### II. Die nach den verschiedenen Verfahren hergestellten Milchsorten.

Sehen wir von der vom hygienischen Standpunkte aus nicht als zulässig zu erachtenden Milchkonservierung durch Zusatz von Chemikalien ab, so haben wir als älteste physikalische Methode die Sterilisation.

#### a) Sterilisierte Milch.

Schon G a y - L u s s a c (1)<sup>2)</sup> stellte fest, daß Milch, die er täglich auf 100° erhitze, Monate lang, ohne zu säuern oder zu verderben, aufbewahrt werden konnte. Für gewöhnlich führt man die Sterilisation so aus, daß man die Milch auf etwa 100—105° oder

<sup>1)</sup> Die folgende Arbeit ist vom Verfasser auf Anregung und unter Leitung von Prof. Dr. F. L ö h n i s, jetzt in Washington, angefertigt, der philosophischen Fakultät der Universität Leipzig als Dissertation vorgelegt und von dieser angenommen worden. Mitte Juli 1914 bestand der als Assistent am landw. Institut tätige Verfasser mit bestem Erfolg die mündliche Doktorprüfung. Bei Kriegsbeginn wurde er zu den Marburger Jägern einberufen, zog mit diesen im Februar 1916 ins Feld und fand am 25. Mai 1916 bei Auchy in der Nähe von La Bassée, den Heldentod. Prof. Dr. V o g e l.

<sup>2)</sup> Die Literatur-Angaben finden sich am Schluß der Arbeit.

im strömenden Wasserdampf (von ca. 98° C) längere Zeit erhitzt. Hierbei werden zwar die vegetativen Keime so gut wie vollständig abgetötet, doch auch die in der Milch enthaltenen, die Verdauung unterstützenden Enzyme werden vernichtet, während die Dauerformen (Sporen) fast sämtlich erhalten bleiben. Viele Untersuchungen haben ergeben, daß eine vollständige „Abtötung aller in der Milch vorkommenden Keime allerdings nur dann möglich ist, wenn es sich um möglichst aseptisch gewonnenes Material handelt“ (2). Je reiner und frischer die zu sterilisierende Milch ist, um so leichter gelingt es, eine wirklich haltbare Milch herzustellen. Nach Soxhlet (3) hielt sich sauber gewonnene und daher leicht sterilisierbare Milch sechs Monate, während unsaubere und schwer sterilisierbare Milch schon nach drei bis vier Tagen gerann. Es ist sogar möglich, und auch in der Tat mehrfach festgestellt worden, daß unsauber gewonnene und erhitzte Milch geradezu gesundheitsschädlich werden kann. Durch die Erhitzung werden in erster Linie die harmlosen, vielleicht sogar für die Verdauung nützlichen Milchsäurebakterien und andere Mikroben vernichtet, die in der nicht erhitzten Milch die widerstandsfähigeren, schädlichen Bakterien meist sehr rasch verdrängen. Strub (4), Flügge (5) und andere fanden z. B. keimfähige Sporen von *Bacillus mesentericus vulgatus* und von anderen peptonisierenden Arten noch in der Milch, nachdem diese einige Stunden (2—6) gekocht worden war. Schon Pasteur (6) sowie Schroeder und von Dusch sind bei ihren Versuchen, Milch durch Erhitzen zu sterilisieren, auf große Schwierigkeiten gestoßen. Erst wenn sie die Milch mehrere Stunden auf 100° oder etwa ½ Std. auf 130° erhitzt hatten, gelang es ihnen sicher, alle Keime in der Milch abzutöten. Nach Kirchner (7) bedarf man der Einwirkung einer Temperatur von 120° für die Dauer von 2 Std., oder man muß die Milch 6—7 Std. im Kochen erhalten. Indessen leidet hierbei der Wohlgeschmack und die sonstige Beschaffenheit der Milch so sehr, daß die Anwendung so hoher Temperaturen in praxi nicht möglich ist. Die so hoch erhitzte Milch hat auch in hygienischer Hinsicht keinerlei Vorzug vor der in gewöhnlicher Weise abgekochten Milch. Das einfache, kurze Aufkochen, wie es im Haushalt üblich ist, reicht hin, alle vorhandenen pathogenen Keime zu vernichten. Der Grad der chemischen Veränderungen in dieser Milch ist nicht so hoch, als in wirklich sterilisierter Milch. Längeres Erhitzen führt zu einer Bräunung der Milch und zu einer Verschlechterung des Geschmacks. Dieser Kochgeschmack ist nach Weigmann (8) durch das Einwirken der alkalisch reagierenden, phosphorsauren Salze auf den Zucker und durch möglicherweise eintretende Veränderung der Fettsäuren bedingt. Thörner (9) sucht eine Erklärung in dem Verlust an Kohlensäure, der bis zu 90 Proz. betragen soll. Schon dadurch wird ein Teil der Verbindungen des Calciums unlöslich. Doch auch ohne Verlust von Kohlensäure, allein durch das Erhitzen, werden diese Verbindungen teilweise in einen unlöslichen Zustand übergeführt. Nach Söldner (10) beruht die eigentliche Ursache der Veränderung in der teilweisen Umwandlung der löslichen Calciumsalze in unlösliche Calciumphosphate, besonders Tricalciumphosphat. Durch Zusatz von Phosphorsäure (Eugling (11) oder durch Einleiten von Kohlensäure kann diese Umsetzung eventuell wieder rückgängig gemacht werden. Das Casein erfährt durch die Erhitzung ebenfalls eine Veränderung, die Gerinnungsfähigkeit durch Lab wird verzögert. Eugling glaubt, daß die durch das Kochen eingetretene alkalische Reaktion der Gerinnungsfähigkeit hinderlich ist. Nach Freudenreich (12) wird diese nur vermindert, aber nicht aufgehoben.

Die Proteinstoffe der Milch sind: Albumin, Laktoglobulin und Casein. Jene beiden gerinnen bei der Erhitzung; es bleibt jedoch noch etwas lösliches Eiweiß in der erhitzten Milch enthalten, das aber kein echtes Pepton darstellt. Infolge der Eiweißzersetzung bildet sich, besonders in einer unvollständig sterilisierten Milch, Schwefelwasserstoff. Dies geschieht besonders nach erfolgter Peptonisierung, wie Fynn (13) in mehreren Fällen nachwies. Die geringsten Veränderungen erleidet das Fett, das zum Teil zusammenfließt. Die in der Milch vorhandenen Oxydasen und Peroxydasen werden durch die Erhitzung (bei etwa 80°) zerstört. Zahlreiche Untersuchungen über diesen, für die Erkennung gekochter Milch wichtigen, Vorgang sind u. a. von Neumann-Wender (14), Jensen (15), Tjaden (16), Koske und Hertel ausgeführt worden.

#### b) Backhaus-Milch.

In der sogenannten Backhaus-Milch haben wir es ebenfalls mit einer sterilisierten Milch zu tun, die aber noch, um sie der Frauenmilch chemisch und physiologisch ähnlich zu machen, in entsprechender Weise behandelt wird. Seit 1895 wird sie nach dem von Prof. Dr. Backhaus (17) angegebenen Verfahren im Großen hergestellt. Gegenwärtig ist sie in über 100 Anstalten des In- und Auslandes eingeführt, und in noch viel mehr Betrieben wird Milch in ähnlicher Weise für die Verwendung als Kindernahrung

zubereitet. Jährlich werden über 2 Millionen Liter Backhaus-Milch, die ausschließlich zur Ernährung von Säuglingen dienen, in den Handel gebracht. Die Herstellungsweise ist folgende: Vollmilch wird zunächst durch Zentrifugieren in Rahm und Magermilch getrennt. Diese wird dann bei 40° C mit einem Pulver versetzt, das außer Lab auch Trypsin und etwas Alkali enthält. Dadurch wird ein Teil des Caseins gelöst und deshalb leichter verdaulich gemacht. Der andere Teil des Caseins wird zusammen mit einem Teil der Milchsätze ausgefällt. Der abgeschiedene Käsestoff wird durch Filtrieren entfernt und das Filtrat auf 80° C zum Abtöten der hinzugesetzten Enzyme erhitzt. Man fügt nun so viel Rahm hinzu, daß ein, je für die verschiedenen Altersstufen der Kinder geeignetes, Gemisch mit bestimmtem Fettgehalt entsteht. Nachdem dann noch eine entsprechende Menge Milchsucker hinzugefügt worden ist, wird die Milch in Portionsflaschen gefüllt und sterilisiert. Meist wählt man folgende Zusammensetzung (18): 500 Teile Molken + 100 Teile Rahm + soviel Milchsucker, daß der Gehalt auf 5,5 Proz. steigt. Das Gemisch enthält dann ca. 5 Proz. Casein + 1,25 Proz. lösliches Eiweiß + reichlich 3 Proz. Fett + 5,5 Proz. Milchsucker + 0,6 Proz. Salze und ist so der Frauenmilch ziemlich ähnlich.

Daß auch die so präparierte Milch nicht keimfrei ist, haben Seiffert (19) und andere nachgewiesen.

### c) Uviol-Milch.

Durch das Erhitzen der Milch wird zwar die Mehrzahl der darin vorhandenen Keime abgetötet, die Milch erleidet jedoch die verschiedensten Veränderungen, die die zum Teil erlangten Vorteile keineswegs ausgleichen.

Man hat deshalb nach anderen Verfahren geforscht, die nicht mit diesem Übelstande behaftet sind. Anstatt der Wärme hat man das Licht zu Hilfe genommen. Schon Duclaux (20) erklärte an der Hand zahlreicher Versuche, daß das Licht „das verbreitetste, billigste und mächtigste Mittel zur Tötung der Mikroorganismen ist“. Besonders wirksam sollen hierbei die violetten und die ultravioletten Strahlen sein. Indessen vermögen auch diese nur sehr dünne Milchsichten ( $\frac{1}{2}$ —1 mm) zu durchdringen; in stärkeren Schichten bleiben sie vollkommen unwirksam, wie überhaupt in denjenigen Flüssigkeiten, die Kolloide enthalten. „Die dichteren Milchanteile werfen“, wie sich Hering (21) ausdrückt, „einen Ultraschatten derart, daß die in diesem Schatten liegenden Keime von der baktericiden Wirkung ausgeschlossen bleiben“. Die Ansichten anderer Forscher sind geteilt; teils wurden günstige Resultate erzielt, zum allergrößten Teile sind aber die Versuche negativ ausgefallen. Seiffert, der ebenfalls die ultravioletten Strahlen zur Abtötung der Keime anwandte, erzielte eine Verminderung ihrer Zahl bis zu 75 Proz. Durch sein Verfahren sollen vor allem die chemischen Eigenschaften der Milch und deren Enzyme nicht zerstört werden und der Rohzustand der Milch erhalten bleiben. Der nach dem Seiffertschen Verfahren behandelten Milch legte Soltmann die Bezeichnung „Uviolmilch“ bei, von der vom Juli 1907 bis 1. Januar 1910 17105 l verarbeitet und an 300 Säuglinge verabreicht wurden. Auch für die Käseermilch und für die zur Fütterung bestimmte Magermilch wird das Seiffertsche Verfahren von Soltmann empfohlen. Lobeck (23) untersuchte als erster diese „Uviolmilch“ und gelangte zu sehr günstigen Resultaten. Nach ihm bewirken die ultravioletten Strahlen wirklich eine Abtötung der Keime. Indessen stehen diese unter Verwendung von Agar-Gußkulturen erlangten Befunde nicht im Einklange mit der gleichzeitig festgestellten Tatsache, daß die Milch bereits am 3. Tage unter Säuerung gerann. Eine nachteilige Wirkung der Bestrahlung auf das Fett konnte von ihm nicht, oder doch nur in geringem Grade nachgewiesen werden. Zu ganz anderen, zum Teil entgegengesetzten Ergebnissen gelangten andere Forscher, die sich ebenfalls zur Aufgabe gestellt hatten, in der Milch die Keime mit Hilfe der ultravioletten Strahlen abzutöten. Soxhlet (24) konstatierte bereits 1884, daß das Talgigwerden des Butterfettes durch die blauen Lichtstrahlen verursacht wird. Much und Römer (25) fanden, daß besonders durch die ultravioletten Strahlen die chemischen Eigenschaften und vor allem das Fett nachteilig verändert werden. Zu den gleichen Ergebnissen kamen P. H. Römer und Sames (26). Außerdem wurde in diesem Falle festgestellt, daß durch ultraviolette Strahlen auch die Oxydasen geschädigt, bei intensiver Bestrahlung sogar vernichtet werden. In diesem Falle erscheint auch ein gelblich-weißes „Koch-Häutchen“ auf der Milch. Dornic und Daire (27) zeigten, daß das MilCHFett durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht einen Speckgeruch annimmt. Nach Dreyer und Hansen (28) wird nicht nur das Fett zersetzt, sondern auch die Eiweißstoffe werden koaguliert, was später auch Römer und Sames (29), G. Vallet (30), A. Agulhon (31) und C. Hugge (32) bestätigt haben. Hugge erzielte zwar

bei Anwendung einer Lampe von 220 Volt vollkommene Sterilisation, aber nur in relativ keimarmer Milch und hier auch nur in den dünnsten Schichten ( $\frac{1}{2}$ —1 mm). Er kommt zu dem Ergebnis, daß das Verfahren in der Praxis auf die größten Schwierigkeiten stößt und nur zur Sterilisation von Wasser zu gebrauchen ist. Römer und Sames erzielten zwar eine Keimverminderung, doch blieben viele Sporen am Leben, die, genau wie in erhitzter Milch, eine Gefahr bilden, die man nicht außer acht lassen soll. V. Henri, O. Heilbronner und M. de Recklinghausen (33) kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Ein Verfahren, die auf 60° erhitzte Milch mit ultravioletten Strahlen zu behandeln, ist ihnen später durch ein französisches Patent geschützt worden. Ein deutsches Reichs-Patent ließen sich Seiffert und Sohn (34) in Chemnitz erteilen auf ihre Methode, Milch mit ultravioletten Strahlen zu behandeln und während der Bestrahlung auf niedrige Temperaturen (4°) abzukühlen. Gerber und Hirschi (35) kamen ebenfalls zu negativen Resultaten, doch halten sie es nicht für ausgeschlossen, daß eine längere, intensive Bestrahlung eine wirkliche Sterilisation der Milch herbeiführt. In der Tat berichteten V. Henri und Stodel (36), völlige Sterilität der gewöhnlichen Handelsmilch durch deren Behandlung mit ultravioletten Strahlen erreicht zu haben. Doch ließen neuerdings S. H. Ayers und H. J. Johnson (37) die in Quarz-Quecksilberlampendruck 220 Volt und 3,5 Ampère erzielten Strahlen auf Milch einwirken, ohne daß eine Abtötung der Keime zu erreichen gewesen wäre. Da die Milch außerdem einen schlechten Geschmack annahm, erklärten beide Forscher das Verfahren, Milch mit ultravioletten Strahlen zu behandeln, als aussichtslos.

Größere Bedeutung hat daher keines der empfohlenen Verfahren erlangt. Auch Seifferts Uviol-Milch ist fast nur von lokaler Bedeutung geblieben.

#### d) Enzyma-Milch.

O. Lobeck hat ein neues Verfahren vorgeschlagen, bei dem die Milch mit Hilfe eines „Biorisator“ genannten Apparates „keimfrei“ gemacht werden soll. Die Mängel der bisherigen Milcherhitzungsmethoden sollen hierbei vermieden und die Gewinnung gesunder und haltbarer Milch gewährleistet sein (38). Trotz der Anwendung von Wärme soll der Rohmilchcharakter der „biorisierten“ Milch erhalten bleiben. Die „Gesellschaft für Molkereifortschritte“, der das Verfahren patentiert worden ist, schreibt der mit dem „Biorisator“ behandelten Milch folgende Vorzüge zu:

1. Kein Kochgeschmack der Milch,
2. keine Stallgase und Gerüche,
3. keine Homogenisierung,
4. keine Schädigung der chemischen und biologischen Eigenschaften, wie beim Pasteurisieren und Sterilisieren,
5. keine Gerinnung der Eiweißstoffe,
6. Aussehen, Geruch und Geschmack von bester Rohmilch,
7. gleiche Aufrauhungsfähigkeit,
8. größere Haltbarkeit,
9. Befreiung von Bakterien, namentlich von Krankheitserregern.

Das Verfahren selbst besteht im wesentlichen darin, daß die Milch in fein verteiltem Zustande als „Milchnebel“ blitzartig auf etwa 75° erhitzt und sofort wieder abgekühlt wird. Alle vegetativen Keime und vor allem alle Krankheitserreger sollen hierbei vernichtet werden. Gegenüber den anderen Erhitzungsmethoden soll dieses Verfahren den großen Vorteil haben, daß keinerlei chemische oder biologische Veränderungen in der Milch stattfinden, „denn es fehlt ja das relativ langsame Ansteigen der Temperatur, das die Zersetzungsreaktion einleiten könnte“ (39). Die Milchenzyme sollen nicht verändert und die Eiweißstoffe nicht koaguliert, somit keine Veränderung im Aussehen, Geruch und Geschmack hervorgerufen werden. Von einer „Befreiung der Milch von Bakterien, besonders von pathogenen Keimen“, kann natürlich, genau genommen, nicht die Rede sein; eine mit Bakterien infizierte Milch kann nicht von ihnen „befreit“, die Keime können höchstens abgetötet werden. Die nach dem Biorisatorverfahren „vegetativ keimfreie“ Milch erhielt von Hering wegen der in ihr aktiv bleibenden Enzyme den Namen „Enzymamilch“. Diese Milch soll sich besonders für die Ernährung von Säuglingen eignen, da sie sehr haltbar ist und nicht erst aufgekocht zu werden braucht. Ferner soll die „Enzymamilch“ auch sehr gute Molkereiprodukte liefern, da sie sich, speziell beim Verkäsen, ganz wie Rohmilch verhält. Hering glaubt, annehmen zu dürfen, daß durch das Biorisator-Verfahren die Möglichkeit gegeben ist, eine bakterienfreie, unveränderte Milch allen Klassen der Bevölkerung zugänglich zu machen.

Zu einer Biorisatoranlage (40) gehören: 1. der Entkeimungsapparat, „Biorisator“ genannt, 2. eine Druckpumpe zum Ansaugen der Milch und 3. ein Druckgefäß mit Sicherheitsventil und Manometer.

Mittels der Druckpumpe erfolgt zunächst eine Verdichtung der zuvor gereinigten Milch. Unter einem Druck von 3—4 Atmosphären gelangt die Milch durch eine am Boden angebrachte Düse in fein zerteiltem Zustand in den Entkeimer. Hier wird die zerstäubte Milch momentan auf eine Temperatur von ca 70—75° C gebracht. Danach fließt die Milch sofort über einen Kühler, der ummantelt ist, damit keine äußere Infektion erfolgen kann. Unter dem Kühler befindet sich das Auffanggefäß. Bis jetzt sind in Leipzig und in Düsseldorf Biorisatoranlagen in Gebrauch. In Leipzig wird die Enzymamilch für 30 Pfg. für 1 Liter verkauft.

Untersuchungen über Enzymamilch wurden von Schloßmann (41) und von Meurer ausgeführt. Meurer, dessen Untersuchungen sich über ein Jahr erstrecken, behandelte Milch von sehr verschiedener Beschaffenheit mittels des Biorisators und erhielt erst nach 3—4 Tagen auf Bouillon-Gelatine-Platten vereinzelte Kolonien, die nur aus Heu- und Erdbazillen herangewachsen waren. Vergleichsplatten mit nicht biorisierter Milch waren bereits nach 24 Stunden von Kolonien überwuchert. Pathogene Keime, besonders Tuberkelbazillen, wurden nach Schloßmanns Versuchen gleichfalls abgetötet (44). Die Enzymreaktionen nach Storch, Arnold, Rothensfußer und Scharfing erwießen sich alle als positiv; es waren somit keinerlei Enzymveränderungen in der Milch zu verzeichnen. Freund untersuchte ebenfalls Enzymamilch auf Veranlassung des Vereins der städtischen Milchgroßbetriebe Deutschlands und kam zu ähnlich günstigen Ergebnissen wie Meurer. Indessen teilt er mit, daß die biorisierte Milch bereits nach 19 Stunden einen Säuregrad von 24,0° hatte. Nach 24 Stunden war die biorisierte Milch geronnen; es zeigten sich Bläschen bis 3 mm Durchmesser, aber trotzdem soll „keine Gasbildung“ vorhanden gewesen sein. Ob pathogene Keime abgetötet werden, hat Freund nicht festgestellt; er sagt zwar, daß die Erreger von Cholera, Typhus, Dysenterie usw. vernichtet werden, und ferner glaubt er, annehmen zu dürfen, daß die Erreger aller Viehseuchen ebenfalls getötet werden. Das Biorisatorverfahren soll tatsächlich alles das erfüllen, was in den Ankündigungen verheißen wird.

Im Prinzip ist das Biorisatorverfahren eine neue Art des Pasteurisierens. Pasteurisierte Milch besitzt gegenüber der sterilisierten den Vorteil, daß der Kochgeschmack nicht so stark hervortritt. Durch das Pasteurisieren werden auch die pathogenen Keime vernichtet. Nach M. J. Rosenau (44) werden die Ansteckungskeime der Perlsucht, des Typhus, der Bräune, des Scharlach und der Ruhr getötet, wenn Milch auf 60° erhitzt und 20' lang diesem Wärmegrad ausgesetzt wird. L. Russell (45) hat festgestellt, unter welchen Bedingungen die Tuberkelbazillen zum Absterben gebracht werden können. Dies geschieht nach seinen Erfahrungen, wenn die Milch 30' lang auf 65°, oder 15' auf 69°, oder 10' lang auf 75° erhitzt wird.

Bei richtiger Ausführung der Pasteurisierung ist eine weitgehende Reduktion der Keimzahl erreichbar. So erzielte z. B. L. Russell (46) eine Verminderung um 99,7 bis 99,8 Proz. aller Keime, wenn die Milch 20' lang auf 68° erhitzt worden war. Diese günstigen Resultate wurden erhalten, wenn die Milch nach dem Einfüllen in die Flaschen der Erhitzung ausgesetzt wurde. Bei der Enzymamilch können dagegen leicht erhebliche Neuinfektionen der erhitzten Milch dann eintreten, wenn keimhaltige Auffanggefäße zur Verwendung gelangen. Es wird weiterhin zu zeigen sein, daß dieser Punkt in der Tat von nicht zu unterschätzender Bedeutung ist.

### III. Eigene Untersuchungen.

#### 1. Untersuchungsverfahren.

Die in den Originalflaschen befindliche Milch wurde jedesmal sofort nach Empfang ins Laboratorium gebracht. Wie dies auch sonst üblich war, bezog ich die sterilisierte Kindermilch zweimal, Backhausmilch dreimal wöchentlich, Uviol- und Enzymamilch dagegen täglich. Die nicht sogleich verbrauchten Flaschen der beiden erstgenannten Sorten bewahrte ich un eröffnet im Eisschrank bei einer durchschnittlichen Temperatur von 13° auf, um sie am folgenden oder nächstfolgenden Tag zu untersuchen. Nach Ankunft im Laboratorium begann ich meine Untersuchungen damit, daß ich je 10 ccm Milch in Trommsdorffschen Röhrchen ausschleuderte und da

erhaltene Sediment mikroskopisch untersuchte. Um einer Vermehrung der Bakterien vorzubeugen und eine möglichst zutreffende Zahl zu erhalten, begann ich dann sofort mit der Anfertigung der Gußkulturen zur Keimzahlbestimmung. Zuletzt wurde die Enzym-Reaktion und die Alkoholprobe vorgenommen.

#### a) Bakteriologische Prüfung.

Wenn auch zweifellos die Zahl der in einer Milchprobe nachweisbaren Keime keinen unbedingt zuverlässigen Maßstab für die Beschaffenheit der Milch darstellt, so wird doch bei genaueren Milchprüfungen die übliche Feststellung der Keimzahl in Gußkulturen stets ihre Bedeutung behalten. Ich verfuhr bei den entsprechenden Untersuchungen in folgender Weise:

Reagenzgläschen wurden mit je 9 ccm Leitungswasser beschickt, mit Wattestopfen versehen und im Autoklaven bei 2 Atmosphären Überdruck sterilisiert. Ein wenig Wasser verdunstet zwar bei der Sterilisation, diese Menge ist aber so gering, daß sie nicht besonders berücksichtigt zu werden braucht. Gewöhnlich sterilisierte ich nur so viel Gläschen, wie ich an einem Tage benötigt hatte, allerdings, um sofort am nächsten Morgen mit den Gußkulturen beginnen zu können, am vorhergehenden Abend. Die zur Anfertigung der verschiedenen Verdünnungen erforderlichen Pipetten wurden ebenfalls im Autoklav, die Petrischalen dagegen im Heißluftsterilisator (bei 160) sterilisiert. Je nach dem Keimgehalt der betreffenden Milchsorte, bestimmte ich das Maß der Verdünnungen. Im Anfang wurden erst die verschiedensten Verdünnungen angefertigt und danach diejenigen ausgewählt, die sich für die betreffende Sorte am besten eigneten. So benutzte ich bei sterilisierter Kindermilch und bei Backhausmilch Verdünnungen von  $\frac{1}{10}$  und  $\frac{1}{100}$  ccm, bei Uviol- und Enzymamilch von  $\frac{1}{100}$ ,  $\frac{1}{1000}$ ,  $\frac{1}{10\ 000}$  und  $\frac{1}{100\ 000}$ . In den meisten Fällen genügten diese Verdünnungen, bei ein oder zwei Tage lang aufbewahrter Milch mußte dagegen bis zu  $\frac{1}{1\ 000\ 000}$  und  $\frac{1}{10\ 000\ 000}$  gegangen werden.

Aus der (vorher nicht geöffneten) Flasche entnahm ich mittels einer sterilisierten Pipette 1 ccm Milch und brachte diese in ein mit 9 ccm Wasser gefülltes, sterilisiertes Reagenzgläschen. Ich erhielt so eine Verdünnung von  $\frac{1}{10}$  ccm. Nach gründlicher Durchmischung entnahm ich diesem Gläschen wieder mittels einer sterilisierten Pipette 1 ccm dieses Gemisches und übertrug es in ein zweites, mit 9 ccm sterilisiertem Wasser gefülltes Reagenzgläschen usw. So erhielt ich Verdünnungen von  $\frac{1}{100}$ ,  $\frac{1}{1000}$ ,  $\frac{1}{10\ 000}$  ccm usw. Waren die gewünschten Verdünnungen erreicht, so brachte ich wiederum mittels einer sterilisierten Pipette je 1 ccm in sterilisierte Petrischalen, die danach mit geschmolzenem und auf ca. 42° C abgekühltem Agar beschickt wurden.

Als Nährboden verwandte ich in der Regel 1. Ragitagar und 2. Molkenagar. Bei deren Herstellung verfuhr ich nach den Angaben, die L ö h n i s (47) in seiner Anleitung für das landwirtschaftlich-bakteriologische Praktikum hierüber macht:

##### 1. Ragitagar.

22 g Ragit-Bouillon (E. Merk, Darmstadt).  
1000 ccm Leitungswasser,  
10 g Agar.

##### 2. Molkenagar.

Die aus einem Liter Magermilch erhaltenen Molken,  
1 Proz. Pepton,  
 $\frac{1}{2}$  Proz. Na Cl,  
1  $\frac{1}{2}$  Proz. Agar.

Dem Ragitagar wurde eine schwach alkalische Reaktion erteilt, Molkenagar dagegen nicht neutralisiert.

Anstelle von Ragit-Agar wurde in einzelnen Fällen mit sehr gutem Ergebnis Trocken-Agar nach Prof. Doerr verwendet, das neuerdings von Louis Müller Nachf. in Leipzig in den Handel gebracht wird.

Bei sterilisierter Kindermilch und bei Backhausmilch erhielt ich bei beiden Nährböden ungefähr übereinstimmende Ergebnisse, dagegen bei Uviol- und Enzymamilch (wohl wegen der hier in größerer Zahl vorhandenen Milchsäurebakterien) meist auf Molkenagar höhere Zahlen.

Soweit Molkenagar zur Verwendung kam, brachte ich eine geringe Menge zuvor sterilisierter Kreide mit in die Schale. Durch gleichmäßige Verteilung der Kreide entsteht eine Trübung des Nährsubstrats, die eine rasche Erkennung der säurebildenden Kolonien gestattet, insofern jede säurebildende Kolonie die Kreide in ihrer Umgebung zur Lösung bringt. Mit Hilfe dieses von Beijerinck (48) angegebenen Verfahrens kann man also die Zahl der Milchsäurebakterien rasch und ziemlich genau bestimmen.

Sofort nach dem Erstarren des Agars drehte ich die Schalen um, brachte in den Deckel ein Stückchen sterilisiertes Fließpapier und betupfte dieses mit einem Tropfen Glycerin. Durch dieses, von Harrison und Vanderleck (49) vorgeschlagene Verfahren wird die Agaroberfläche von dem aus dem Agar austretenden Kondenswasser befreit und das auf Agar sonst sehr häufige Breitlaufen der Kolonien verhindert.

Die so hergestellten Platten wurden dann drei Tage lang bei einer Temperatur von 38° C im Thermostaten gehalten und nach dieser Zeit die entstandenen Kolonien gezählt.

Um auch etwa vorhandene pathogene Keime, besonders Tuberkelbazillen, nachzuweisen, fand die Impfung an Meerschweinchen statt, die im Veterinärinstitut der Universität Leipzig ausgeführt wurde. Zu diesem Zwecke wurden Meerschweinchen subkutan am Rücken mit je 2 Ösen Bodensatz von zweimal 100 ccm Milch infiziert. Die Tiere wurden 6—7 Wochen beobachtet und nach dieser Zeit seziert.

Herrn Prof. Dr. Eber bin ich zu Dank verpflichtet für die gütigst erteilte Erlaubnis, diese Prüfungen in seinem Institut vornehmen zu dürfen. Ebenso möchte ich Herrn Dr. A. Kriegbaum auch an dieser Stelle für die Ausführung der Impfungen und Sektionen herzlich danken.

#### b) Schleuderprobe.

Statt der umständlichen Keimzahlbestimmungen mittels Gußkultur genügt für viele Zwecke die mikroskopische Betrachtung des Zentrifugensediments. Die mikroskopische Prüfung gewinnt mehr und mehr an Bedeutung. Durch sie ist es möglich, die Zahl und auch teilweise die Art der Mikroorganismen annähernd zu erkennen, vor allem aber über das Vorkommen von Leukocyten und Streptokokken ein zutreffendes Urteil zu gewinnen. Die Leukocyten- und Streptokokkenfrage ist in den letzten Jahren vielfach erörtert worden, besonders als man zur Erkenntnis gelangt war, daß die Milch einer an Mastitis erkrankten Kuh für die menschliche Gesundheit nachteilige Folgen haben kann. Für die polizeiliche Überwachung des Milchverkehrs hat diese Prüfung daher große Bedeutung. Allerdings ist die Erkennung der einzelnen Streptokokkenarten nicht immer leicht, vor allem kann man zuweilen nicht mit Bestimmtheit entscheiden, ob es sich wirklich um Mastitisstreptokokken handelt. Ernst (50) betont daher mit Recht:

„Wollte ein Milchbeschauamt alle Milch, die irgendwelche Streptokokken enthält, dem Verkehr entziehen, so könnte dies nur dadurch geschehen, daß jede Milch von vornherein beschlagnahmt wird“. Er sagt sogar weiter: „Streptokokken können wir als Vertreter der normalen Bakterienflora der Handelsmilch betrachten.“ *Bergey* (51) wies als erster auf einen gewissen Zusammenhang der Streptokokken mit den Leukocyten hin; eine beträchtliche Menge der letzteren sollte Mastitis anzeigen. Es wurden daher die verschiedensten Methoden vorgeschlagen, um die Zahl der ausgeschiedenen Leukocyten zu ermitteln. Am meisten bewährt hat sich jedenfalls die *Trommsdorffsche* Schleuderprobe (52, 53), die ich deshalb auch bei meinen Versuchen angewendet habe.

Je 10 ccm der gut durchmischten Milchprobe werden in kleinen, unten verengten Röhrchen 5 Minuten lang rasch zentrifugiert. In der Verengung der Röhrchen schlägt sich dann ein mehr oder minder reichlicher Bodensatz nieder, der in Volumen-Promille an der graduierten Glaskapillare abgelesen wird. Zugleich wird etwa in der Milch vorhandener ungelöster Schmutz sichtbar. Von dem Absatz werden dann gefärbte Ausstrichspräparate angefertigt und in den bereits angegebenen Richtungen mikroskopisch durchgemustert.

#### c) E n z y m - R e a k t i o n .

Zur Unterscheidung von roher und gekochter Milch sind jetzt viele Verfahren in Anwendung, die alle auf zwei Reaktionen beruhen:

1. auf dem Nachweis des Albumins in dem vom Casein befreiten Serum der Milch (54),
2. auf der Freimachung von Sauerstoff aus Wasserstoffsuperoxyd ( $H_2O_2$ ) durch Enzyme der Milch und der Übertragung des freigewordenen Sauerstoffs auf leicht oxydierbare, farbstoffbildende Stoffe.

Die Verfahren der ersten Gruppe sind im allgemeinen zu umständlich; es sind daher hauptsächlich die Verfahren der zweiten Gruppe in Anwendung.

*Babcock* (55) fand im Jahre 1889, daß rohe, nicht aber gekochte, Milch Wasserstoffsuperoxyd in freien Sauerstoff und in Wasser zerlegt. Als Ursache dieser Reaktion nahm *Neumann-Wender* (56) ein Enzym an, das Peroxydase genannt wurde. Die Erwärmung der Milch auf ca. 75° vernichtet diese ihre Eigenschaft. *Storch* (57) gründete hierauf sein Verfahren zur Unterscheidung von gekochter und ungekochter Milch, das darin besteht, daß der Milch ein Tropfen einer 0,2proz. Wasserstoffsuperoxyd-Lösung und 1—2 Tropfen einer 2proz. Paraphenylendiaminlösung hinzugesetzt wird.

Dieses Verfahren ist von vielen Forschern benutzt worden; in Italien (1904), (Frankreich 1905) und in der Schweiz (1905) wurde es amtlich eingeführt, um rohe Milch von gekochter zu unterscheiden. Das *Storch'sche* Verfahren hat indessen auch seine Mängel, namentlich die relativ geringe Haltbarkeit der Paraphenylendiaminlösung macht sich oft störend bemerklich. *Rothenfußer* empfahl im Jahre 1908 eine neue Reaktion, beruhend auf der Verwendung eines Gemisches von Guajakol und Paraphenylendiamin. Dieses Reagens sollte nach der ersten Mitteilung von *Rothenfußer* (58) folgendermaßen hergestellt werden: „1 g Paraphenylendiamin wird in 15 ccm Wasser gelöst und mit einer Auflösung von 2 g Guajakol in 135 ccm 96proz. Alkohol vermischt. Die zu prüfende Milch oder besser das daraus durch Fällung mit basischem Bleiacetat (Bleissig, Liqueur



Plumbi subacetici Ph. G. IV) gewonnene Serum mit einigen Tropfen des Reagens versetzt und etwas Wasserstoffsperoxyd hinzugefügt“. Von Hesse und Kooper (59) wurden mit Hilfe dieser Methode viele Untersuchungen angestellt, die sich auch auf die Prüfung von Butter erstreckten. Es ergab sich, daß die „Paraphenylendiamin-Guajaklösung von allen andern verwendeten chromogenen Stoffen das empfindlichste Reagens war“. Die Haltbarkeit der benutzten Lösung ließ indessen viel zu wünschen übrig. Das gleiche stellte Vieth fest, der bei der Herstellung des Rothenschen Reagens, auch bei Verwendung ganz frischer Präparate, eine farblose Lösung nicht erhalten konnte. Rothens teilte danach in einer weiteren Arbeit mit (60), daß er nicht die freie Base, sondern das Chlorhydrat gemeint habe.

Eine Paraphenylendiaminchlorhydrat-Guajaklösung soll sich nach ihm Jahre lang halten.

Ich kann dies insofern bestätigen, als ich ebenfalls eine Paraphenylendiamin-Guajaklösung höchstens zwei Tage brauchbar fand, dagegen hielt sich eine Paraphenylendiaminchlorhydrat-Guajaklösung drei Monate lang, fast unverändert.

Die Versuche selbst stellte ich wie folgt an: In Reagenzgläsern pipettierte ich 10 ccm der zu untersuchenden Milch, gab 5—6 Tropfen der Rothenschen Lösung, ca. 10 Tropfen 0,3proz. Wasserstoffsperoxyd hinzu und schüttelte durch. Je nachdem es sich um rohe oder um erhitzte Milch handelte, erhielt ich eine blaue oder keine Färbung. Zum Vergleich benutzte ich stets rohe Milch aus dem Rassenstalle des Landwirtschaftlichen Instituts.

#### d) Alkoholprobe.

Ausgedehntere Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Alkoholprobe wurden von Henkel (61), Fleischmann (62), Seligmann (63) und in neuerer Zeit von Auzinger (64) angestellt. Henkel betont „daß wir mittels der Alkoholprobe zu erkennen vermögen, wenn die Milch (frischmelkender Kühe) sogenannte normale Beschaffenheit angenommen hat. Die Beobachtungen der Milch von altemelken Kühen und bei Kolostrummilch weisen uns darauf hin, daß die Alkoholprobe in höherem Maße noch als die Säureprobe, welche mehr als eine chemische Probe anzusehen ist, Aufschluß über die physiologische Beschaffenheit der Milch zu geben vermag, also nicht nur eine chemische, sondern auch eine physiologische Probe darstellt.“ Auzinger hält die Alkoholprobe besonders für Säuglingsmilch und für Vorzugsmilch bei der Stallkontrolle als unerlässlich.

Gewöhnlich wird die Alkoholprobe so ausgeführt, daß man gleiche oder doppelte Volumina Milch und Alkohol mischt, und zwar nimmt man hierzu gewöhnlich 70proz. Alkohol von neutraler Reaktion. Bei Handelsmilch gibt diese Art der Alkoholprobe aber selten einen brauchbaren Anhalt.

Löhnis schlug deshalb vor, die Milch nicht mit bestimmten Mengen Alkohol zu vermischen, sondern sie mit Alkohol von verschiedener Konzentration zu titrieren. Die Herren Kandidaten R. Wernicke und M. Zieschang haben dieses neue Verfahren gleichzeitig mit mir im hiesigen Laboratorium in verschiedenen Richtungen erprobt. Herr Zieschang wird hierüber in einer besonderen Arbeit berichten. Bei den nachstehend besprochenen Untersuchungen wurde die Alkoholprobe in der Weise ausgeführt, daß ich in ein Bechergläschen 2 ccm Milch pipettierte und diese mit 90proz. Alkohol so lange titrierte, bis die Gerinnung eintrat.

## 2. Die Ergebnisse.

Untersucht wurden im ganzen 180 Milchproben, und zwar:

46 Proben sterilisierte Kindermilch,  
41 Proben Backhausmilch,  
49 Proben Uviolmilch,  
26 Proben Enzymamilch, sowie zum Vergleich 18 Proben nicht erhitzter Muster-Kindermilch.

Die dabei erhaltenen Ergebnisse sind am Schluß dieser Arbeit tabellarisch zusammengestellt. Im einzelnen ist hierzu folgendes zu bemerken:

### a) Sterilisierte Kindermilch.

Von den untersuchten 46 Proben waren 18 frisch geliefert, 15 Proben standen 1 Tag, 11 Proben 2, 1 Probe 3 und 1 Probe 28 Tage bei etwa 13° C.

Über das Aussehen der Fläschchen ist wenig zu sagen, nur das sei hervorgehoben, daß die Gummiringe an den Verschlüssen bisweilen viel zu wünschen übrig ließen. Gerade rissige Gummiringe sind aber besonders imstande, den Keimen während der Erhitzung einen bedeutenden Schutz zu gewähren (64). Ein Fläschchen ( $\frac{1}{4}$  l) kostete 10 Pfennige.

Die Sedimentzahlen bewegten sich bei den frisch gelieferten Proben zwischen 0,2 und 2; im Durchschnitt wurde 0,8‰ gefunden. Bei der Aufbewahrung wurde stets eine Abnahme des Sediments bemerkt, wahrscheinlich findet diese Erscheinung ihre Erklärung darin, daß die Leukocyten allmählich von den Bakterien zersetzt und infolgedessen nicht mehr durch die Trommsdorffsche Methode nachgewiesen werden können. Diejenigen Proben, die einen Tag im Eisschrank standen, ergaben 0,2—1‰, im Mittel 0,5‰, Absatz; bei zweitägiger Aufbewahrung wurde 0,1—1,1‰, im Durchschnitt 0,4‰, gefunden.

Bei der mikroskopischen Prüfung zeigte es sich, daß in 24 Proben, d. h. in 54 Proz. aller Fälle, Streptokokken vorhanden waren, die ihrem Aussehen nach Mastitisstreptokokken gewesen sein konnten. Eine völlig sichere Entscheidung in dieser Hinsicht ist bekanntlich bei Mischmilch nicht möglich; immerhin legen auch die oft abnorm hohen Sedimentzahlen den Verdacht nahe, daß mastitisches Sekret beigemischt war. Da ferner bekannt ist (65), daß die Streptokokken-Toxine durch das Erhitzen nicht immer zerstört werden, so muß man zweifellos fordern, daß auch die sterilisierte Kindermilch, ebenso wie die in rohem Zustande zum Verkauf gelangende Kindermilch, frei von Streptokokken geliefert wird.

Die Alkoholprobe ergab, auch bei den aufbewahrten Proben, nahezu die gleichen Werte. Bei den frischen Proben schwankten diese Werte zwischen 3,7 und 5,7; durchschnittlich wurden 4,8 ccm 90prozentiger Alkohol verbraucht. Nach 1tägiger Aufbewahrung waren die betreffenden Zahlen 3,9—6; im Mittel 4,9 und nach 2 Tagen 2,9 und 5,6; im Durchschnitt 4,8 ccm. Bei derjenigen Probe, die ich drei Tage lang aufbewahrte, war die Alkoholzahl 5,1 und bei der 28 Tage aufbewahrten Probe 4,1. Diese Befunde deuten darauf hin, daß die in der Milch vorhandenen Keime keinen erheblichen Einfluß auf die Haltbarkeit ausgeübt haben.

Der Keimgehalt war nahezu immer der gleiche; die Zunahme bei der Aufbewahrung war relativ gering. Doch war keine einzige Milchprobe vollkommen sterilisiert; die niedrigste Keimzahl betrug 30. Über die Höhe der Keimzahlen gibt Tabelle I Auskunft.

Tabelle I.

Alter der Proben	Molkenagar			Ragitagar		
	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel
Frisch . . . .	50	1 850	460	90	1 100	350
1 Tag . . . .	30	3 150	740	90	5 050	890
2 Tage . . . .	95	160 000	16 548	90	175 000	17 070
3 Tage . . . .			4 235			4 130
28 Tage . . . .			320			215

Tabelle II zeigt, wie oft niedrige und wie oft hohe Keimzahlen festgestellt wurden:

Tabelle II.

Alter der Proben	Keimzahl pro ccm	Anteil der Proben in %	
		Molkenagar	Ragitagar
Frisch	10—100	17	17
	100—500	44	55
	mehr als 500	39	28
1 Tag	10—100	7	7
	100—500	53	57
	mehr als 500	40	36
2 Tage	10—100	10	0
	100—500	50	64
	mehr als 500	40	36

Rund  $\frac{2}{3}$  aller Proben enthielten also in allen Fällen weniger als 500,  $\frac{1}{3}$  aber mehr als 500 Keime pro ccm. Die verhältnismäßig sehr hohen Befunde von 350 000 und 175 000 kamen allerdings nur zweimal vor; bei sogenannter „sterilisierter Kindermilch“ müssen sie jedoch zu berechtigtem Bedenken Veranlassung geben.

Die Enzym-Reaktion war in allen Fällen negativ, ein Zeichen, daß stets eine ausgiebige Erhitzung stattgefunden hatte. Da aber, wie gesagt, die Menge der überlebenden Keime z. T. noch recht bedeutend war und das häufige Vorkommen von Streptokokken aus dem angegebenen Grunde beanstandet werden mußte, so wird dieser scheinbar günstige Befund nicht allzu hoch eingeschätzt werden dürfen. Mir persönlich ist ein Fall bekannt, bei dem in der Tat ein Kind nach Genuß dieser sterilisierten Kindermilch an einem schweren Darmkatarrh erkrankte.

Impfungen mit dem Bodensatz der „sterilisierten Kindermilch“ wurden gewöhnlich nach jeder zehnten Untersuchung, im ganzen fünfmal, ausgeführt. Sämtliche Versuchstiere (Meerschweinchen) blieben gesund.

Anhangsweise mögen einige Worte über die ebenfalls geprüfte „Muster-Kindermilch“ gesagt sein, die demselben Betriebe wie die „sterilisierte Kindermilch“ entstammt, aber im Rohzustande in den Handel gebracht wird.

Von dieser Milch wurden 18 Proben untersucht, und zwar 6 sofort nach Empfang, 6 standen 1 Tag bei 15° C, die anderen 6 ebenfalls 1 Tag lang bei Zimmerwärme (23—24°).

Die Schleuderprobe lieferte bei den frischen Proben 0,2 bis 2,2<sup>0</sup>/<sub>100</sub>, im Mittel 0,5<sup>0</sup>/<sub>100</sub>, Sediment. Bei den 1 Tag lang bei 15° C aufbewahrten Proben wurden Sedimentzahlen gefunden, die sich zwischen 0,1 und 0,2 bewegten; im Mittel ergab sich 0,2<sup>0</sup>/<sub>100</sub>. Diejenigen Proben, die bei 23—24° C standen, waren nach 24 Stunden bereits geronnen.

Bei der mikroskopischen Betrachtung des Sediments waren in 2 von 6 Proben Streptokokken in der für die Mastitis-Erreger charakteristischen Form zu bemerken.

Die Alkoholzahlen schwankten bei den frischen Proben zwischen 2 und 4,1; im Mittel wurden 2,8 cem 90 proz. Alkohol verbraucht. Waren die Proben einen Tag bei 15° aufbewahrt, so wurden Alkoholzahlen zwischen 0,5 und 2,9; im Durchschnitt 2 gefunden.

Der Keimgehalt war verhältnismäßig hoch; von den 6 frischen Proben enthielten 3 (50 Proz.) mehr als 50 000 Keime pro cem. Bei der Aufbewahrung war hier natürlich eine Zunahme der Keime zu verzeichnen. Pro Kubikzentimeter wurden in den frischen Proben gezählt:

Auf Molkenagar			Auf Ragitagar		
Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel
30 000	134 000	74 330	24 000	117 500	61 250

In den bei 15° aufbewahrten Proben:

Auf Molkenagar			Auf Ragitagar		
Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel
22 000 000	144 000 000	65 500 000	1 850 000	62 000 000	27 000 000

In den bei 23—24° aufbewahrten Proben:

Auf Molkenagar			Auf Ragitagar		
Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel
79 000 000	1 250 000 000	480 000 000	30 000 000	1 228 000 000	322 000 000

Über den auf die Milchsäurebakterien entfallenden Anteil gibt Tabelle III Auskunft:

Tabelle III.

Alter der Proben	Molkenagar		
	Min.	Max.	Mittel
Frish . . . . .	10 000	43 000	23 000
1 Tag bei 15° .	13 000 000	65 000 000	28 000 000
1 Tag bei 23° .	90 000 000	400 000 000	205 000 000

Die Enzymreaktion war stets positiv.

#### b) Backhaus-Milch.

Von den untersuchten 41 Proben waren 19 frisch bezogen, 17 standen 1 Tag und 5 2 Tage im Eisschranke.

Das Äußere der Fläschchen war in den meisten Fällen einwandfrei; ebenso gab die Beschaffenheit der Gummiringe zu keiner Beanstandung Anlaß. Der Preis für 1 Fläschchen ( $\frac{1}{5}$  l) betrug 15 Pfennig.

Wie bei der „sterilisierten Kindermilch“ waren auch bei der Backhaus-Milch hohe Werte für das Sediment zu verzeichnen. Wahrscheinlich findet dies seine Erklärung in der besonderen Zubereitung der Milch. Die

Sedimentzahlen schwankten bei frischer Milch zwischen 0,2 und 1,2, im Durchschnitt fand sich  $0,8\text{‰}$ ; nach 1 tägiger Aufbewahrung der Milch waren die Werte 0,1—1,4, durchschnittlich 0,7, und nach 2 Tagen 0,2—0,7, im Mittel  $0,5\text{‰}$ . Es ist hier bei der Aufbewahrung ebenfalls eine Abnahme des Sedimentes zu bemerken, wohl aus demselben Grunde, den ich schon oben angegeben habe.

Die Alkoholzahlen waren sehr hoch. Bei frischer Milch bewegten sie sich zwischen 5,2 und 6,8; durchschnittlich wurden 5,9 ccm verbraucht. Bei 1 tägiger Aufbewahrung nahmen sie jedoch etwas zu; sie schwankten zwischen 5,2 und 6,9; als Mittelwert ergab sich 6; nach 2 Tagen war ebenfalls z. T. noch eine Zunahme, teilweise aber auch eine Abnahme zu konstatieren. Verbraucht wurden 5,1—7,2, im Durchschnitt 5,8 ccm Alkohol.

Keine einzige der untersuchten 41 Proben war vollständig sterilisiert; die niedrigste Keimzahl war 10. Auf Ragit- und Molkenagar wurde auch hier annähernd die gleiche Zahl von Kolonien ermittelt. Eine Vermehrung der Keime war bei der Aufbewahrung im Eisschranke nicht bemerkbar. Eine bei  $38^{\circ}$  aufbewahrte Probe ergab allerdings nach 6 Tagen 60 000 000 Kolonien pro ccm.

Tabelle IV gibt Aufschluß über die Höhe der Keimzahlen in den sogleich und später untersuchten Proben:

Tabelle IV.

Alter der Proben	Molkenagar			Ragitaragar		
	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel
Frisch . . . .	25	4865	1060	10	5120	1120
1 Tag . . . .	20	1535	450	40	1800	475
2 Tage . . . .	80	900	410	115	1300	480

Wie bei der „sterilisierten Kindermilch“, fanden sich auch hier in den meisten Proben zwischen 100 und 500 lebendige Keime pro ccm.

Tabelle V zeigt fast dasselbe Bild wie Tabelle II:

Tabelle V.

Alter der Proben	Keimzahl pro ccm	Anteil der Proben in %	
		Molkenagar	Ragitaragar
Frisch	10—100	26	21
	100—500	37	42
	mehr als 500	37	37
1 Tag	10—100	23	18
	100—500	35	59
	mehr als 500	42	23
2 Tage	10—100	20	0
	100—500	40	60
	mehr als 500	40	40

In 5 Proben wurden auf den Kreideagarplatten Milchsäurebakterien gezählt; nämlich in:

No. 13 . . .	310 Keime
No. 15 . . .	50 „
No. 21 . . .	745 „
No. 38 . . .	200 „
No. 40 . . .	10 „

Bei Milch No. 30—39, sowie bei No. 24, zeigten sich im mikroskopischen Bilde Streptokokken von der für die Mastitiserreger bezeichnenden „Staket“-Form. In 28 Proben waren große Mengen (abgetöteter) Milchsäurestreptokokken sichtbar. Es ist dies ein Zeichen dafür, daß zur Bereitung nicht immer besonders gute Rohmilch verwendet worden war.

Die E n z y m - R e a k t i o n war bei allen Proben negativ. Das gelegentliche Vorkommen von lebenden Milchsäurebakterien deutet aber auf nachträgliche Infektionen hin.

P a t h o g e n e Keime konnten nicht nachgewiesen werden. Es wurden drei Meerschweinchen geimpft, die sämtlich gesund blieben.

### c) Uviol-Milch.

Bevor ich die Ergebnisse meiner Untersuchung bespreche, sei nochmals kurz auf die Ausführungen eingegangen, die L o b e c k der Seiffert-schen „Uviol-Milch“ gewidmet hat. In der betreffenden Arbeit (23) heißt es u. a.: „Die Milch kommt vom Melkeimer sofort in den Keimtötungsapparat, aus welchem sie dann sogleich in die für die Säuglinge bestimmten Flaschen abgefüllt wird. Im Keimtötungsapparate, in dem nun die Milch einem „Veredlungsprozesse“ unterworfen wird, ist sie der Wirkung ultravioletter Strahlen ausgesetzt, wodurch etwa in ihr vorhandene Bakterien getötet werden sollen“. „Die Form, das Material und die Anordnung der Apparate sind derart gewählt, daß dabei einer bakteriologisch möglichst vollkommenen Asepsis vollständig Rechnung getragen wird.“ In Übereinstimmung hiermit konnte L o b e c k auf den mit belichteter Milch beschickten Agarplatten während einer 48-stündigen Beobachtungszeit keine Keimentwicklung bemerken. Wenig harmoniert mit diesem Befunde allerdings die folgende Angabe: „Wurde die belichtete Milch bei Zimmertemperatur von 20° C aufbewahrt, so hielt sie sich drei Tage, im Eisschranke bei + 10° C 4—5 Tage lang süß. Es trat nach Ablauf dieser Zeit rasch Säuerung und Gerinnung ein“. Weiter wird gesagt, daß die Belichtung „das in der Milch enthaltene Fett in keiner Weise verändert habe“. Aus den Tabellen aber ist zu ersehen, daß sich der maximale Ranciditätsgrad (nach K ö t t s - t o r f e r) in roher Milch auf 2,55, dagegen in belichteter auf 4,79 belief. L o b e c k kommt zu dem Schluß, „daß durch ultraviolette Strahlen tatsächlich eine Abtötung der Bakterien stattfindet“, und daß „eine verändernde oder nachteilige Wirkung der Strahlen auf das in der Milch enthaltene Fett nicht nachgewiesen werden konnte“.

Zu ganz anderen, ich muß sagen, entgegengesetzten Resultaten bin ich bei meinen Untersuchungen gelangt. Diese erstreckten sich auf 49 Proben, von denen 38 sogleich geprüft wurden. 10 Proben standen bei einer Temperatur von 14° eine Nacht im Eisschrank; 1 Probe stand eine Nacht bei Zimmertemperatur.

Das Äußere der Milchflaschen war stets sauber; nicht einwandfrei waren dagegen die Flaschenverschlüsse. In der Mehrzahl der gelieferten Proben war die Milch durch die Erschütterung bei der Beförderung etwas ausgelaufen. In einigen Fällen war der Carton, in dem die Flaschen aufbewahrt

werden, von der ausgelaufenen Milch sogar völlig durchnäßt. Von einem regelrechten Verschlusse kann somit nicht die Rede sein. Unterhalb der Aluminiumblättchen befand sich bei mehreren Proben ein Agarhäutchen, das sich aber fast jedesmal gänzlich oder teilweise aufgelöst hatte und auf der Milch schwamm. Diese Agarhäutchen, die nach Seiffert steril sein sollen, bieten naturgemäß den Keimen in der Milch einen vorzüglichen Nährboden. Das zeigt sich besonders dann sehr deutlich, wenn die Milch über Nacht stehen bleibt. In einem der Fläschchen wurde ein Glassplitter gefunden.

Der Preis für Uviolmilch ist verhältnismäßig hoch; er beläuft sich für 1 Liter auf 65 Pfennig. Für diesen Betrag kann eine von vornherein vollkommen einwandfreie Milch geliefert werden, während es sich bei der Uviolmilch um eine nachträglich „veredelte“ Milch handelt, die zudem, wie die bakteriologischen Prüfungen lehrten, nicht das hält, was nach den Angaben des Erfinders hätte erwartet werden dürfen.

Die Sedimentzahlen bewegten sich bei den frischen Proben zwischen 0,2 und 3; im Durchschnitt ergaben sich  $0,6^{\circ}/_{\infty}$ . Bei der Aufbewahrung sanken diese Zahlen auf 0,1—1,2, im Mittel auf  $0,4^{\circ}/_{\infty}$ .

Bei der mikroskopischen Prüfung erwiesen sich 18 Proben, also 46 Proz., als abnorm reich an zähem Schleim, der das gefärbte Präparat in zahlreichen Fäden bedeckte. In 8 Fällen ergaben sich Befunde, die sehr für eine Beimischung von Mastitis-Milch sprachen, und zwar handelt es sich um die Proben No. 14 und 15, No. 20—22, No. 27—28. Die Sedimentzahl war in diesen drei Perioden ziemlich hoch; in einem Falle (No. 21) stieg sie bis auf  $1,8^{\circ}/_{\infty}$ . Die Streptokokken zeigten jene typische Staketform, die nach Ernst den pathogenen Streptokokken zukommt. Das Sediment hatte die charakteristische, gelbliche Farbe.

Die Alkoholzahlen waren niedriger als bei den beiden zuvor besprochenen Milchsorten. Bei frischer Milch bewegten sich die Zahlen zwischen 3 und 5,7; im Durchschnitt stellten sie sich auf 3,1 ccm. Bei der Aufbewahrung nahmen sie ab, und zwar lagen sie dann zwischen 1,7 und 3,6, im Mittel bei 2,4. In der bei Zimmertemperatur aufbewahrten Probe fiel die Alkoholzahl, die ursprünglich 2 betragen hatte, bis auf 1,7 (im Eisschrank dagegen auf 1,9).

Über die Höhe der Keimzahlen orientiert Tabelle VI:

Tabelle VI.

Alter der Proben	Molkenagar			Ragitagar		
	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel
Frisch . .	10 750	1 785 000	174 680	4 900	1 650 000	112 960
1 Tag . .	402 700	42 000 000	7 028 500	1 256 000	29 000 000	5 814 500

Die im allgemeinen ziemlich hohen Keimzahlen beweisen, daß von einem Abtöten der Bakterien durch die ultravioletten Strahlen nicht gesprochen werden kann. Daß sie auf Molken-Agar stets höher waren als auf Fleischagar, muß mit dem häufigen Vorkommen von Milchsäurebakterien in Zusammenhang gebracht werden.

Nach ihrer Keimzahl ordnen sich die frisch, d. h.  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde nach Empfang untersuchten Proben, in der in Tabelle VII angegebenen Weise:

Tabelle VII.

Keimzahl pro ccm	Anzahl der Proben		Anteil der Proben %	
	Molkenagar	Ragitaragar	Molkenagar	Ragitaragar
unter 5 000	0	2	0	5
5 000—10 000	0	1	0	3
10 000—25 000	8	10	21	27
25 000—50 000	12	6	32	18
über 50 000	18	18	47	47

Fast die Hälfte der Proben entsprach also nicht der für den Verkehr in der Stadt Leipzig aufgestellten Forderung, daß Vorzugs-, Kinder-Milch usw. nicht mehr als 50 000 Keime pro ccm enthalten darf.

In 15 Proben wurden die Milchsäure-Bakterien getrennt ausgezählt. Mit steigender Gesamt-Keimzahl stieg auch der auf sie entfallende Anteil sehr deutlich (Tabelle VIII).

Tabelle VIII.

Zahl der Proben	Mittlere Keimzahl	Milchsäure-Bakterien (%)
8	32 300	9
7	119 190	14

Daß bei der Aufbewahrung die Vermehrung der Milchsäure-Bakterien noch stärker hervortritt, ist selbstverständlich. In 6 einen Tag alten Proben fanden sich im Mittel 5 377 000 Milchsäure-Bakterien pro ccm.

Die Enzym-Reaktion war stets positiv. Nur eine sehr ausgiebige Bestrahlung der Milch schädigt nach Römer und Sames die in ihr enthaltenen Enzyme.

Die Impfungen ergaben wiederum negative Resultate. Keines der drei geimpften Meerschweinchen erwies sich bei der Sektion als infiziert.

Im ganzen muß ich auf Grund meiner Befunde denjenigen beipflichten, die dem Uviol-Verfahren ablehnend gegenüberstehen.

#### d) Enzyma-Milch.

Mit dieser Milchsorte stellte ich 26 Untersuchungen an, und zwar fanden diese bei sämtlichen Milchproben im frischen Zustande statt. Die Proben waren meist am Tage vor der Untersuchung „biorisiert“; einige Proben wurden mir geliefert, die sogar zwei Tage vorher den „Biorisator“ passiert hatten. Über das Äußere der Milchflaschen ist nur zu sagen, daß die Etiketten mehrfach keinen Tagesstempel trugen und daß nach dem Wortlaut der Aufschrift die „Enzyma-Milch“ als „Kindermilch“ gelten sollte; sie darf mithin in Leipzig nicht mehr als 50 000 Keime pro ccm enthalten. Der Preis für 1 Liter beträgt 30 Pfennige.

Die Sedimentzahlen waren im allgemeinen niedrig; sie bewegten sich zwischen 0,1 und 0,6, im Mittel hielten sie sich auf 0,2 ‰.

Ebenso waren die Alkoholzahlen verhältnismäßig niedrig; 1,4—2,7, im Mittel 2,1. Vielleicht läßt sich dies damit erklären, daß diese Prüfungen im Herbste stattfanden und, wie die bereits erwähnten Unter-



suchungen Zieschangs dartun, während der kalten Jahreszeit die Alkoholzahlen frischer Milch wesentlich niedriger sind als im Sommer.

Im gefärbten Ausstrichpräparat waren meist wenig Sporenbildner, dagegen viel Stäbchenbakterien und besonders viel Milchsäurebakterien zu sehen.

Während bei den von anderer Seite ausgeführten Untersuchungen die Keimzahlen in der „Enzyma-Milch“ stets sehr niedrig waren, lieferten meine Versuche überraschend hohe Werte. Es fanden sich nämlich pro ccm:

auf Molkenagar			auf Ragitagar		
Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel
100	3 500 000	330 000	1 900	4 900 000	351 000

Nach ihrem Keimgehalte ordnen sich die Proben wie folgt:

Tabelle IX.

Keimzahl pro ccm	Anzahl der Proben		Anteil der Proben in %	
	Molkenagar	Ragitagar	Molkenagar	Ragitagar
unter 5 000	1	6	4	23
5 000—10 000	2	3	9	11
10 000—25 000	5	6	22	23
25 000—50 000	5	2	22	8
über 50 000	10	9	43	35

Die von mir erhaltenen Zahlen stehen also demnach keineswegs im Einklang mit den bisher veröffentlichten Befunden. Ihre Erklärung findet diese Differenz offenbar in der Tatsache, daß die „biorisierte“ Milch in der betreffenden Molkerei nicht, wie dies bei den bisherigen Versuchen wohl der Fall gewesen sein mag, in sterilisierten Gefäßen aufgefangen wurde. Es haben offenbar sehr erhebliche nachträgliche Infektionen stattgefunden.

In 20 von 26 Proben wurden Milchsäurebakterien gefunden, die nach den Angaben der Erfinder im „Biorisator“ sicher zugrunde gehen sollen. Ihre Zahl schwankte zwischen 200 und 2 100 000; im Mittel wurden 133 500 Milchsäurebakterien pro ccm gezählt. Auch hier nahm der Anteil mit steigender Keimzahl zu.

Tabelle X.

Zahl der Proben	Mittlere Keimzahl	Milchsäure-Bakterien in %
9	18 400	19
10	780 750	37,5

In 2 Proben wurden Gasbildner gefunden, und zwar in No. 4 bei  $1/10\ 000$  Verdünnung 4 und in No. 11 bei  $1/100\ 000$  Verdünnung 2 Gasbildner.

Die Enzym-Reaktion war zwar stets positiv, doch wurde nicht diejenige Färbung erzielt, die rohe Milch hervorruft. Ich stellte daher stets entsprechende Vergleiche an. Um nachzuweisen, in welchem Umfange in der „Enzyma-Milch“ die Enzyme verändert worden sind, führte ich folgenden Versuch aus: Rohe und gekochte Milch wurde im Verhältnis 4:1, 3:2, 2:3 und 1:4 gemischt und nach Rothenfußer geprüft. In je 10 ccm der

hergestellten Mischmilch pipettierte ich genau 5 Tropfen Paraphenylen-diaminchlorhydrat-Guajakol und 10 Tropfen Wasserstoffsuperoxyd. Es stellte sich heraus, daß das Verhalten der Enzyma-Milch ungefähr demjenigen eines Gemisches von 70 Teilen roher und 30 Teilen gekochter Milch entsprach. Es ist daher nicht richtig, wenn gesagt wird, daß keinerlei Enzymveränderungen in der Enzyma-Milch eingetreten sind. Man darf vielmehr annehmen, daß die äußeren Schichten der Milchtröpfchen in dem „Biorisator“ auf ca. 75 ° erhitzt werden, die inneren Teile unter dieser Temperatur bleiben und so die Milch im ganzen eine andere Enzym-Reaktion ergibt als rohe. Auch die deutlich gelbliche Farbe der „Enzyma-Milch“ entspricht genau derjenigen einer Mischung von 2 Teilen roher und 1 Teil gekochter Milch.

Einige Proben (No. 15, 21—23) zeigten einen unangenehmen, an Metall erinnernden Geschmack. Da diese Erscheinung nicht fortlaufend, sondern nur in gewissen Proben wahrzunehmen war, so kann sie jedenfalls nicht dem „Biorisator“ selbst zugeschrieben werden; ich nehme vielmehr an, daß der Geschmack von rostigen Milchkannen herrührte. Im allgemeinen war der Geschmack gut, er entsprach ebenfalls ungefähr dem Mengenverhältnis von 70 Teilen roher und 30 Teilen gekochter Milch.

Offenbar ist die Tatsache, daß die biorisierte Milch in den keimhaltigen Auffanggefäßen mehr oder weniger starken Neu-Infektionen ausgesetzt ist, von erheblicher Bedeutung. Hierauf ist es zunächst zurückzuführen, daß sehr oft die für „Kindermilch“ festgesetzte Maximal-Zahl überschritten wurde. Werden aber sämtliche Flaschen vor der Verwendung sterilisiert, so erhöhen sich dadurch die Kosten des Verfahrens natürlich recht wesentlich. Und es bleibt danach doch sehr fraglich, ob man nicht lieber bei der bewährten Dauer-Pasteurisation der Flaschenmilch bleiben soll, sofern überhaupt eine Erhitzung als wünschenswert erscheint.

Wird die in Flaschen abgefüllte Milch 30 Minuten auf etwa 65° C erhitzt, so findet nicht nur, wie zahlreiche Nachprüfungen lehren, bei sorgfältiger Arbeitsweise eine sehr weitgehende Herabsetzung der Keimzahl und eine zuverlässige Abtötung pathogener Keime statt; es werden auch, wie beim „Biorisator“-Verfahren, die Enzyme und die Eiweißstoffe der Milch ebenso wenig beeinträchtigt, wie der Geschmack und der Geruch der Milch. Die gleichzeitige Erhitzung der Flaschen tötet auch die darin enthaltenen Keime zum größten Teile ab und Neu-Infektionen sind so gut wie ausgeschlossen. Über die Rentabilität des „Biorisator“-Verfahrens liegen daher keine Angaben vor, doch dürfte auch in dieser Hinsicht das ältere Verfahren wohl den Wettbewerb aushalten, das zudem an die Schulung des Personals offenbar die geringeren Anforderungen stellt.

Daß in der Tat das Eintreten oder Ausbleiben von nachträglichen Infektionen von entscheidender Bedeutung ist, mag noch durch einige Zahlen beleuchtet sein. Ich erhitzte einige Milchproben verschiedenen Keimgehalts 30 Minuten lang auf etwa 63° C und erhielt dabei folgende Ergebnisse:

		I	II	III	IV
Keimzahl pro cem	vor der Erhitzung	6 000	520 000	1 100 000	10 000 000
	nach der Erhitzung	10	2 600	3 000	ca. 20 000

Durchschnittlich 99,5—99,8 Proz. aller Keime waren also durch diese Behandlung abgetötet, in vollkommener Übereinstimmung mit den bereits erwähnten Feststellungen amerikanischer Autoren. Die Milchprobe III, die rund 1 000 000 Keime enthielt, pasteurisierte ich in gleicher Weise, dann ließ ich eine Flasche unberührt stehen; eine andere Flasche wurde in eine trocken sterilisierte, eine dritte in eine im Dampf sterilisierte Flasche umgefüllt, die 1 Tag gestanden hatte. Eine weitere Flasche wurde in eine sauber gereinigte (nicht erhitzte) und schließlich wurde eine Flasche in eine unsauber gereinigte umgefüllt, in der vorher saure Milch aufbewahrt worden war und in der sich noch angetrocknete Milchreste befanden. Nachdem die Flaschen 1 Tag im Eisschrank gestanden hatten, fanden sich Keime pro ccm:

I. unberührt . . . . .	12 000
II. trocken sterilisiert . . . . .	1 2 500
III. dampfsterilisiert . . . . .	19 000
IV. sauber gereinigt . . . . .	21 000
V. unsauber gereinigt . . . . .	117 000

Die Keimvermehrung war demnach, wie vorauszusehen war, am geringsten in der Probe I, die unberührt stehen geblieben war, am größten in Probe V. Die Trocken-Sterilisation der Flaschen (bei 160—165°) ist der Dampf-Sterilisation deshalb prinzipiell vorzuziehen, weil bei dieser eine lebhafte Bakterien-Wucherung in dem Kondenswasser eintreten kann (66).

Die Enzym-Reaktion war stets positiv, da ja keine Erhitzung bis 72° stattgefunden hatte; im Vergleich zu Rohmilch war die Blaufärbung jedoch nicht so intensiv.

Fast mit den gleichen Anpreisungen, wie das „Biorisator-Verfahren“ von der „Gesellschaft für Molkerei-Fortschritte“ wird von A h l b o r n die Wasserbad-Dauererhitzung für Flaschenmilch empfohlen. Unter anderem heißt es:

„Diese Flaschenmilch-Dauererhitzung verfolgt den Zweck, eine zuverlässig von Krankheitskeimen freie Milch herzustellen, welche nicht die unerwünschten Nebenerscheinungen hochgradig erhitzter Milch aufweist, wie Kochgeschmack, Verlust der Aufnahmefähigkeit, Gerinnen und Ausscheiden von Eiweißkörperchen, Ausfällen des Milchzuckers, Schwinden des Lezithingehaltes usw. Die in diesem Apparat verarbeitete Milch bewahrt die leichte Verdaulichkeit frisch ermolkenen Milch und ist als Vollmilch zu bezeichnen.“

Ich glaube, annehmen zu dürfen, daß dieses Verfahren insofern dem „Biorisator“-Verfahren vorzuziehen ist, als ein erneutes Umfüllen in Flaschen nicht stattfindet und so keine Neuinfektionen hinzutreten können.

#### IV. Tabellen.

Das Tabellenmaterial ist zur Herbeiführung einer für notwendig erachteten Kürzung unter Weglassung der Angaben über die mikroskopischen Befunde und der bei Benutzung von Ragitagar erhaltenen Keimzahlen in der folgenden Zusammenstellung vereinigt worden.

##### Erklärung der Abkürzungen.

Die eingeklammerten Ziffern an manchen der Sedimentzahlen geben an, wieviel Tage die betreffende Probe aufbewahrt worden ist.

- St. K. = Sterilisierte Kindermilch.
- M. K. = Muster-Kindermilch (nicht erhitzt).
- B. M. = Backhaus-Milch.
- U. M. = Uviol-Milch.
- E. M. = Enzyma-Milch.

Sediment ‰					Alkoholzahl				
St. K.	M. K.	B. M.	U. M.	E. M.	St. K.	M. K.	B. M.	U. M.	E. M.
> 2	0,8	1	0,8	0,6	3,7	4,1	6,3	4,5	2,3
1 1/2	0,2 (1)	1,1 (1)	0,8	0,1	3,8	2	6,4	3,9	2,3
1/2	geronnen (2)	1,2	0,5	0,2	4,7		6,2	5,7	2,4
0,2	2,2	1,2 (1)	0,7	0,2	5	2,0	5,5	3,2	2,6
0,5 (1)	0,2 (1)	1,1 (1)	0,7	0,1	1,4	2,1	5,9	4	1,4
0,5 (2)	geronnen (2)	1	1	0,2	4,8		6,1	2,8	1,8
0,4 (3)	0,4	1 (1)	0,5	0,2	4,8	3,6	6	3,5	2,2
1	0,2 (1)	1	0,4	0,2	5,1	0,5	6,6	2,2	2,4
0,4 (1)	geronnen (2)	0,4 (1)	0,4	0,2	4,7		6,3	3	2,7
1,1 (2)	0,4	1,2	0,8	0,2	4,5	2,3	5,9	3,5	1,9
0,5	0,2 (1)	0,6 (1)	0,5	0,3	5,2	2,1	6,2	3,8	1,8
0,5 (1)	geronnen (2)	1	0,8	0,2	5,2		5,7	3,8	2
0,5	0,3	1,1	0,4	0,3	5	2,1	6,1	2,4	2,1
	Mastitis								
0,8 (1)	0,2 (1)	0,8 (1)	Mastitis	0,2	4,7	2,9	5,5	2,2	2
0,3 (2)	geronnen (2)	1	0,5	0,2	5,1		5,8	2,7	2
0,5	0,2		0,5	0,1	5,1	2,8	5,2	3	2
	Mastitis								
0,3 (1)	0,1 (1)	0,5 (1)	0,9	0,2	5	2,5	5,2	2,8	2
1	geronnen (2)	0,4 (2)	0,5	0,2	4,4		5,1	2,2	1,9
1 (1)		0,5 (1)	0,3	0,1	3,9		5,3	4,2	2,1
0,7 (2)		0,9 (2)	0,2	0,2	4,3		5,2	4	2,2
1 (28)		0,9	1,8	0,2	4,1		5,5	3,9	2,1
1		0,9 (1)	0,5	0,3	4,4		6,6	3,1	1,9
0,6 (1)		1,4 (1)	0,8	0,2	4,4		6,3	2,4	1,9
0,5		0,4	0,5	0,2	4,4		5,6	2,2	2,2
0,2 (2)		0,5 (2)	0,4	0,3	3,9		5,6	3,6	2
0,6		1	0,3	0,2	5		5,8	3,3	2
0,5 (1)		0,5 (1)	0,6		5		5,8	3,2	
0,5		0,5	0,6		4,4		6,1	2,3	
0,6 (1)		0,3 (1)	0,2		5		5,7	2,1	
0,2 (2)		1	0,3		4,5		5,8	2	
0,8 (1)		0,7 (2)	0,2		4,6		5,8	1,9	
0,2 (2)		0,2	0,5 (1)		4,6		5,7	1,7	
0,9		0,1 (1)	> 3		4,8		6	3,2	
		Mastitis							
0,4 (1)		0,4	0,3		4,9		5,8	3,1	
		Mastitis							
0,2 (2)		0,2 (1)	0,3 (1)		5,1		6,3	3,2	
		Mastitis							
0,5		0,3	0,3 (1)		5,2		6	2,9	
		Mastitis							
0,8 (1)		0,2 (2)	0,2		5,1		7,2	2,4	
		Mastitis							
0,3 (2)		0,8	0,2 (1)		4,7		6,1	2,9	
		Mastitis							
0,5		0,3 (1)	1		5,1		6,6	3,2	
		Mastitis							
0,2 (1)		0,4	1,2 (1)		5,2		6,8	3,6	
0,1 (2)		0,2 (1)	0,3		5,2		6,8	3	
1			0,6 (1)		5,7			2,1	
0,3 (1)			0,5		5,6			3	
0,3 (2)			0,2		5,6			3,8	
0,8			0,1 (1)		5,6			1,7	
0,3 (1)			0,3		6			2	
			0,2 (1)					2,3	
			1					2,1	

Enzymreaktion					Molkenagar				
. K.	M. K.	B. M.	U. M.	E. M.	St. K.	M. K.	B. M.	U. M.	E. M.
—	+	—	+	+	220	134 000	25	45 000	
—	+	—	+	+		22 000 000	285	160 000	
—	+	—	+	+	1 505	200 000 000	50	10 750	
—	+	—	+	+	140	102 000	600	48 500	5 000 000
—	+	—	+	+	295	35 000 000	350	19 770	513 000
—	+	—	+	+	700	600 000 000	80	423 000	95 000
—	+	—	+	+	1 235	103 000	1535	17 930	570 000
—	+	—	+	+	70	144 000 000	1260	48 200	13 700
—	+	—	+	+	1 080	500 000 000	55	38 100	19 000
—	+	—	+	+	285	30 500	570	36 470	27 500
—	+	—	+	+	300	85 000 000	870	136 500	1 400 000
—	+	—	+	+	205	1 250 000 000	165	21 500	65 000
—	+	—	+	+	235	38 500	1735	19 400	8 500
—	+	—	+	+	420	82 000 000	495	22 570	23 000
—	+	—	+	+	670	250 000 000	3755	21 070	1 900
—	+	—	+	+	250 000	37 500	510	152 700	78 000
—	+	—	+	+	520	26 000 000	20	53 000	25 000
—	+	—	+	+	850	79 000 000	80	133 000	27 500
—	+	—	+	+	2 400		240	53 300	76 000
—	+	—	+	+	365		175	49 900	50 000
—	+	—	+	+	320		4865	1 159 000	27 500
—	+	—	+	+	190		545	98 000	34 500
—	+	—	+	+	1 260		700	40 000	5 100
—	+	—	+	+	1 850		4500	475 000	22 000
—	+	—	+	+	2 300		525	19 300	74 000
—	+	—	+	+	50		290	135 000	21 000
—	+	—	+	+	500		100	172 000	
—	+	—	+	+	500		275	45 700	
—	+	—	+	+	190		700	403 000	
—	+	—	+	+	395		400	533 000	
—	+	—	+	+	170		375	362 000	
—	+	—	+	+	335		90	5 160 000	
—	+	—	+	+	200		95	46 300	
—	+	—	+	+	100		285	83 000	
—	+	—	+	+	95		200	3 185 000	
—	+	—	+	+	90		315	4 000 000	
—	+	—	+	+	110		900	57 000	
—	+	—	+	+	300		915	2 400 000	
—	+	—	+	+	600		130	1 731 000	
—	+	—	+	+	625		30	2 300 000	
—	+	—	+	+	160 000		1200	48 000	
—	+	—	+	+	390			10 200 000	
—	+	—	+	+	30			450 000	
—	+	—	+	+				38 300	
—	+	—	+	+	205			42 000 000	
—	+	—	+	+	3 150			1 800 000	
—	+	—	+	+				5 000 000	
—	+	—	+	+				210 000	

### V. Zusammenfassung.

Die Hauptergebnisse der vorstehend besprochenen Untersuchungen sind kurz zusammengefaßt folgende:

1. Die sogenannte „sterilisierte Handelsmilch“ (sterilisierte Kindermilch und Backhausmilch) war zwar in der Regel wesentlich keimärmer als die pasteurisierte und die rohe Kindermilch; stets waren aber in ihr doch noch erhebliche Mengen von lebenden Keimen (10—5000, ausnahmsweise 350 000) pro ccm) anzutreffen. Von den geprüften 26 Proben Enzymamilch enthielten 43 Proz., von 38 Proben Uviolmilch 47 Proz. mehr als 50 000 Keime pro ccm, d. i. die für Leipziger Kindermilch festgesetzte Maximalzahl.

2. Streptokokken von der für die Mastitiserreger charakteristischen Form waren in sterilisierter Kindermilch in 54 Proz., in Backhausmilch in 27 Proz. und in Uviolmilch in 17 Proz. aller Fälle vorhanden. In Enzymamilch konnten keine Streptokokken dieser Art bemerkt werden. Die Sedimentzahlen schwankten in der sterilisierten Kindermilch zwischen 0,2 und 2, in Backhausmilch zwischen 0,2 und 1,2, in Uviolmilch zwischen 0,2 und 3 und in Enzymamilch zwischen 0,1 und 0,6 Promille. Bei der Backhausmilch finden die durchschnittlich verhältnismäßig hohen Sedimentzahlen (0,8 ‰) wahrscheinlich in der besonderen Zubereitung dieser Milch ihre Erklärung. Bei ein- oder mehrtägiger Aufbewahrung der Milch konnte stets eine Abnahme des Sediments bemerkt werden.

3. Milchsäure-Bakterien konnten in sterilisierter Kindermilch nicht, dagegen in 26 Proz. der Backhausmilch, in 40 Proz. der Uviolmilch und in 77 Proz. der Enzymamilch-Proben nachgewiesen werden. Bei der zuletzt genannten Milchsorte sind vermutlich Kontakt-Infektionen für das häufige Vorkommen dieser Bakterien verantwortlich zu machen. Wo viel Milchsäure-Bakterien vorhanden waren, wurden auf Molkenagar stets höhere Keimzahlen gefunden, sonst waren ziemlich gleiche Befunde auf diesem und auf Ragit-Agar zu verzeichnen.

4. Die Enzym-Reaktion war bei sterilisierter Kindermilch und bei Backhausmilch stets negativ. In allen Fällen hatte demnach eine ausgiebige Erhitzung stattgefunden. Bei Uviol- und bei Enzymamilch war die Enzym-Reaktion stets positiv; doch war sie bei der zuletzt genannten Milchsorte etwas abgeschwächt, sie entsprach etwa derjenigen Reaktion, die dem Gemische von 70 Teilen roher und 30 Teilen gekochter Milch zukommt.

5. Krankheitserregende Bakterien waren mit Hilfe des Tierversuches in keiner der untersuchten Milchsorten nachweisbar. Doch war die Zahl dieser Versuche (11) verhältnismäßig so klein, daß dieser Befund einer Verallgemeinerung nicht ohne weiteres fähig ist.

6. Die Dauerpasteurisation der Milch in Flaschen (während  $\frac{1}{2}$  Stunde bei 63° C) ist in chemischer wie in bakteriologischer Hinsicht dem Biorisator-Verfahren wohl als gleichwertig an die Seite zu stellen. Sie ist ihm, dem genannten Verfahren, insofern überlegen, als nachträgliche Kontakt-Infektionen ausgeschlossen sind.

7. Die bei der Prüfung der Uviolmilch erlangten Befunde bestätigen durchaus die wenig günstig lautenden Ergebnisse, die von denjenigen Autoren festgestellt worden sind, die eingehende Untersuchungen über dieses Verfahren angesetzt haben. Der für die Uviolmilch geforderte Preis ist zudem so hoch, daß dafür eine von vornherein, d. h. im unbehandelten Zustande, hygienisch vollkommen einwandfreie Milch geliefert werden kann.

**Literatur.**

1. Berzelius, Lehrbuch der Chemie (übersetzt von Wöhler). 3. Aufl. Bd. 9. 1840. p. 706.
2. Löhnis, Handbuch der landw. Bakteriologie. 1910. p. 264.
3. München. med. Wochenschr. 38. 1891. p. 692.
4. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1890. p. 698.
5. Zeitschr. f. Hyg. 17. 1894. p. 272—342.
6. Weigmann, Die Methoden der Milchkonservierung. 1893. p. 43.
7. Kirchner, Handbuch der Milchwirtschaft. 5. Aufl. 1907. p. 109.
8. Weigmann, a. a. O. p. 26.
9. 12. Ann. Rep. Agricult. Experim. Stat. University Madison, Wisc. 1896.
10. Die Salze der Milch. [Diss.] Erlangen 1888.
11. Landw. Versuchs-Stat. 1884. p. 31.
12. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1897. p. 113.
13. Molkerei-Zeitg. Berlin. 1908. p. 122.
14. Österr. Chem.-Zeitg. 1903. No. 1.
15. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 18. 1907. p. 213—217.
16. Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-Amt. 18. 1901. p. 330—332.
17. Molkerei-Zeitg. Berlin. 1913. p. 217.
18. Steinbrück, Lehrbuch der Landwirtschaft, Bd. Milchwirtschaft.
19. Seiffert, M., Die Versorgung der großen Städte mit Kindermilch. Bd. 1. 1904. p. 49 ff.
20. Compt. rend. Acad. Paris. T. 101. 1885.
21. Milchw. Zentralbl. 42. 1913. p. 396—401.
22. Mitteil. d. Deutsch. Milchw. Ver. 27. 1910. p. 130—138; Verh. d. Gesellsch. f. Kinderheilk. 21. 1904. p. 185.  
M. Seiffert, a. a. O. p. 253.  
Die Umschau. 14. 1910. p. 828.
23. Lobeck, Ultraviolette Strahlen, ihre Anwendung zur Sterilisation von Milch und ihre Wirkung auf das in der Milch enthaltene Fett. [Diss.] Leipzig 1905.
24. Upmeyer, Sächs. landw. Zeitschr. 32. 1884. p. 631.
25. Berlin. klin. Wochenschr. 43. 1906. p. 1004, 1041.
26. Hyg. Rundschau. 20. 1910. p. 872—873.
27. Compt. Acad. Paris. T. 149. 1909. p. 354—356.
28. Compt. rend. Acad. Paris. T. 145. 1907. p. 234—236.
29. l. c. p. 354—356.
30. Vallet, G., Compt. rend. Acad. Paris. T. 150. 1910. p. 632—634.
31. Compt. rend. Acad. Paris. T. 152. 1911. p. 238—400.
32. Ann. de la stat. agr. de l'Etat à Gembl. 1912. p. 201—214.
33. Experim. Stat. Rec. 28. 1913. p. 373.  
Frz. Patente 442 807 v. 20. Juni 1911, 442 924 v. 1. Juli 1911.
34. Molkerei-Zeitg. Berlin. 18. 1908. p. 138.
35. Milchw. Zentralbl. 2. 1906. p. 119.
36. Compt. rend. Acad. Paris. T. 148. 1909. p. 582 f.
37. Journ. Washington Acad. Sc. 3. 1913. p. 160—164.
38. Lobeck, Deutsche med. Wochenschr. Bd. 38. 1912. p. 2082.
39. F. Hering, Milchw. Zentralbl. 42. 1913. p. 396—481.
40. Freund, W., Mitteil. d. Deutsch. Milchw. Ver. 30. 1913. p. 165—176.  
Lobeck, Molkerei-Zeitg., Hildesheim. 27. 1913. p. 1186.
41. Schloßmann, A., Archiv f. Kinderheilk. 60/61. 1913. p. 679 ff.
42. Vergl. Freund, M. D. M. V. 30. 1913. p. 165—176.
43. Laengen, Th., Deutsche Milchw. Zeitg. 18. 1913. p. 946—947.
44. Hyg. Labor. Bull. Treasury Depart. Washington. 42. Januar 1908.
45. Russell, Wisconsin Agric. Expert. Stat. Bull. 49. p. 48. (ref. Milchztg. 1897. p. 72.)
46. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 1. 1895. p. 741.
47. Löhnis, Landw.-bakteriol. Praktikum. 1911.
48. Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 9. 1891. p. 781—786.
49. Centralbl. f. Bakt. Bd. 23. 1909. p. 767.
50. Ernst, W., Monatsh. f. prakt. Tierheilk. 20. 1909. p. 414 ff; 21. 1909. p. 63 ff.
51. Bergey, Pennsylv. Dept. Agric. Rept. 1900. I. p. 133—163.
52. Arch. f. Hyg. Bd. 59. 1906.
53. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milch-Hyg. Bd. 19. 1909. H. 6, 7, 8.

54. König, J., Die Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe. 3. Aufl. Berlin 1906.
55. Agric. Experim. Stat. Univers. of Wisconsin, Madison. Bull. 1889. No. 18.
56. Österr. Chem.-Zeitg. 6, 1. 1903.
57. 40de Beretn. fra d. Landboh. Labor. f. landök. Forsög. Kjöbenhavn 1988. (ref. Centralbl. f. Agric. Chem. 27. 1988. p. 711.)
58. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmitt. 1898. 16, 63.
59. Milchw. Zentralbl. 6. 1910. p. 412—420.
60. Milchw. Zentralbl. 6. 1910. p. 468.
61. Henkel, Milchw. Zentralbl. 3. 1907.
62. Fleischmann, Lehrbuch der Milchwirtschaft. 4. Aufl. 1908.
63. Seligmann, Zeitschr. f. Hyg. 49. 1905. p. 325.
64. Swellengrebel, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 12. 1904. p. 443 ff.
65. Lameris u. Harreveld, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 11. 1901. 114.
66. Fleischmann, Lehrbuch der Milchwirtschaft. 4. Aufl. 1908. p. 138.

*Nachdruck verboten.*

## Blattlausgallen, unter besonderer Berücksichtigung der Anatomie und Aetiologie.

[Mitteilungen aus dem Botanischen Versuchslaboratorium und Laboratorium für Pflanzenkrankheiten am K. K. oenolog.-pomolog. Institut in Klosterneuburg; Neue Folge. No. 9.]

Von Dr. Fritz Zweigelt.

Mit 32 Abbildungen im Text.

### Einleitung.

Mit Küsters grundlegendem Gallenwerke (54) hat die prinzipielle Gallenforschung, die mehr als ein bloßes Registrieren der von der Natur gebotenen Formen will, einen bedeutenden Schritt nach vorwärts getan. Der Cecidiologie sind darin klare Wege vorgezeichnet, die bisher gewonnenen reichen Tatsachen einer methodischen Bearbeitung unterzogen worden, wofür wir dem Verfasser stets von neuem danken müssen, dessen Werk auch durch manchen Angriff, besonders seitens entomologischer Zeitungen, an Wert in nichts einbüßen wird. Daß die Blattlausgallen im Rahmen dieses Buches einen relativ kleinen Raum einnehmen, liegt wohl in der geringen Zahl, namentlich anatomischer Untersuchungen hierüber begründet, während gleichzeitig die Arbeiten über die höher organisierten, prosoplasmatischen Gallbildungen (der Cynipiden usw.) fast ins ungeheure gewachsen sind. Der Grund für das bescheidene Interesse, das bisher im großen und ganzen den Aphidiocecidien entgegengebracht wurde, liegt wohl in ihrer Formeneintönigkeit, in der Einfachheit ihrer morphologischen und anatomischen Gestaltung,

<sup>54)</sup> Küster, E., Die Gallen der Pflanzen. Leipzig 1911.

[Jeder Arbeit entspricht im Laufe des Textes eine bestimmte Fußnote, deren Ziffer mit der betreffenden Nummer im alphabetischen Literaturverzeichnis übereinstimmt. Schon zitierte Arbeiten gestatten daher durch die beigegebene Ziffer die leichte Auffindung des letzten Zitates, wie ihres Titels. Auf Fußnoten, die keine Literatur betreffen, wird durch Sternchen verwiesen. Auf das Zitieren der Literatur auch in Fußnoten konnte aus Gründen der Übersicht nicht verzichtet werden.]



die im wesentlichen nur Kataplasmen zeigt und bei oberflächlicher Betrachtung, selbst unter dem Mikroskope, an der Hand von Rasiermesserschnitten, zu gründlicheren Untersuchungen zunächst wenig einladet. Von diesem Standpunkte aus können wir es daher auch verstehen, wenn L. C o u r c h e t (10) bezüglich der *Pemphigus affinis*-Gallen auf *Populus* behauptet: sie „méritent à peine le nom de galles“, eine solche Galle „n'offre que très peu d'intérêt, les modifications étant à peine sensibles“.

Der unmittelbare Anlaß zur vorliegenden Arbeit war das interessante Untersuchungsergebnis über das Saugphänomen der Blattläuse und der Reaktionen der Pflanzenzellen (112). Es lag nahe, zu vermuten, daß die dort beobachteten Reaktionen der Zellen, die pathologischen Veränderungen der der Wirkung des Speichelsekretes zunächst unterworfenen Zellen, vielleicht den Schlüssel bieten könnten für die durch galligene Reize entstehenden Hypertrophien und Hyperplasien der Blattlausgallen, und daß wir hiermit vielleicht auch die Entstehung dieser erklären und die Rolle der Blattläuse zugleich aufdecken könnten. Freilich konnte ich bei Beginn der Untersuchungen von den Resultaten nichts ahnen, und manche der vermuteten Beziehungen ergaben sich schließlich wesentlich anders. Von einem ähnlichen Gedankengang war auch E. K ü s t e r (54) [l. c.] geleitet worden, der p. 281 die Untersuchung der Verhältnisse bei nicht Gallen erzeugenden Aphiden als Grundlage für das Gallenstudium geradezu erfordert.

Die Blattläuse stellen Vertreter für beide von K ü s t e r auseinandergehaltenen Gruppen: der organoiden und histioiden Gallen; obwohl sich meine Untersuchungen ausschließlich auf die letzteren beziehen, und zwar speziell auf das Phänomen der Blattrollung beschränken, sei einleitend auch der organoiden Gallen gedacht, da sie in mancher Hinsicht hohes Interesse bieten. Diels<sup>12)</sup>, M. M. Guéguen und F. Heim<sup>30)</sup>, Massalongo<sup>66)</sup> u. a. besprechen die Formbildungsprozesse bei der durch *Siphocoryne xylostei* auf *Lonicera* erzeugten Blütencecidie, Peyritsch<sup>74)</sup> behandelt eingehend die für uns ätiologisch sehr interessanten Vergrünungen an *Arabis*-Blüten unter dem Einfluß saugender Aphiden. Zu den organoiden Gallen gehören ferner die von A. Tschirch<sup>103)</sup> beschriebenen Veränderungen an den Blüten von *Styrax Benzoin* durch *Astegopteryx*.

Die bekannten, auch von K ü s t e r<sup>54)</sup> [l. c.] angeführten *Pemphigus spirothecae*-Gallen auf *Populus* sind von verschiedenen Autoren, so von Keßler<sup>46)</sup>, A. Tullgren<sup>104)</sup> und v. Kerner<sup>44)</sup>, unter Beibringung von Abbildungen, beschrieben

<sup>10)</sup> C o u r c h e t, L., Étude sur les galles produites par les aphidiens. Montpellier 1879.

<sup>112)</sup> Z w e i g e l t, F., Beiträge zur Kenntnis des Saugphänomens der Blattläuse und der Reaktionen der Pflanzenzelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 42. p. 265.)

<sup>12)</sup> Diels, L., Der Formbildungsprozeß bei der Blütencecidie von *Lonicera*, Untergattung *Periclymenum*. (Flora. N. F. Bd. 5. 1913. p. 184.)

<sup>30)</sup> Guéguen, M. M. u. Heim, F., Variations florales tératologiques d'origine parasitaire chez le chèvrefeuille. — Étude de l'aphidiocécidie florale du *Lonicera periclymenum* L. produite par *Rhopalosiphum xylostei* Schr. (Compt. rend. d. l. 30ème sess. d. l'associat. franç. pour l'avanc. d. scienc. P. I. 1901. p. 130.)

<sup>66)</sup> Massalongo, C., Nuovi zooecidii della flora Veronese. (Marcellia. 1904. p. 114.)

<sup>74)</sup> Peyritsch, J., Zur Ätiologie der Chloranthien einiger *Arabis*-Arten. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 13. 1882.)

<sup>103)</sup> Tschirch, A., Über durch *Astegopteryx*, eine neue Aphidengattung, erzeugte Zooecidien auf *Styrax Benzoin* Dryand. (Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. 8. 1890. p. 48.)

<sup>46)</sup> Keßler, H. F., Die auf *Populus nigra* L. und *Populus dilatata* Ait. vorkommenden Aphidenarten. Kassel 1882.

<sup>104)</sup> Tullgren, A., Aphidol. Studien. I. (Ark. f. zool. Bd. 5. 1909. p. 1—190.)

<sup>44)</sup> Kerner von Marilaun, Pflanzenleben. 1891.

worden. Interessant sind die von Küster in Fig. 27 festgehaltenen Blattformanomalien auf *Salix alba* durch *Aphis amenticola*, die mich hier weniger vom Standpunkt der Gallforschung, als vielmehr der Frage nach Organen interessieren, die, wie Küster selbst sagt, „ein Mittelding zwischen Achsen- und Blattorgan darstellen“. Der Verlauf des Nerven am Blattrande, die Doppelspreitigkeit des Blattes, dessen Gefäßbündelverlauf und -orientierung zu untersuchen wertvoll gewesen wäre, sind Erscheinungen, die lebhaft an die Abnormitäten erinnern, die ich für die *Ruscus* phyllokladien zur Festigung der Caulomtheorie besprochen habe<sup>11)</sup>. Der Umstand, daß die Blätter von *Salix*, die doch echte Blätter sind, dennoch solche abnorme, den Caulomen ähnliche Bildungen zeigen können, ist mir keineswegs ein Gegenbeweis für den Wert der von mir bei den Phyllokladien herangezogenen Kriterien, vielmehr glaube ich, daß wir, wie ich es einer späteren Untersuchung vorbehalten möchte, Phyllo- und Caulom nie wesentlich, sondern nur graduell verschieden annehmen dürfen; gelingt es uns einmal, die phylogenetische Entwicklung der Phyllo- aus Caulomen verfolgen zu können, eine Stufenleiter vom echten Blatt zum echten Achsenorgan herzustellen, dann werden uns auch jene Abnormitäten an *Salix alba* leichter verständlich sein, auf die die Tiere nur insofern einen Einfluß ausüben können, daß sie, in der Pflanze potentiell vorhandene Entwicklungstendenzen zur Auslösung bringen, Möglichkeiten, die hier vielleicht in der „Erinnerung“ der Pflanzengewebe an ältere phylogenetische Glieder begründet erscheinen. Daß in einem Falle (*Salix*) das Tier auslösend war, in einem anderen (*Ruscus*) die Pflanze selbst, erscheint keineswegs sonderbar oder auch nur wesentlich, denn die progressiv in der Richtung zu Blattorganen sich umbildenden Stammorgane der *Ruscus*- u. a. Arten haben, weil in voller Umbildung und noch lange nicht „fertig“, ohne äußeren Anstoß solche „Launen der Natur“ schaffen können; die echten Blätter von *Salix* aber, „fertige Blätter“, die ihre Entwicklung in der Richtung zum Blatte bereits abgeschlossen hatten, bedurften eines Anstoßes, in Form des Gallenreizes einer Blattlaus, um einen „fast schon verlernten“ Weg wieder beschreiten zu können. Für die Beurteilung des Gallreizes sind solche Erwägungen von Wichtigkeit, weil sie uns zeigen, daß wir uns wohl hüten müssen, die Rolle der Blattlaus zu sehr zu überschätzen, und auf Kosten der Pflanze den Aphiden Fähigkeiten zuzusprechen, die in Wahrheit solche der Pflanze sind. Ich will diese Betrachtungen vorerst jedoch beiseite lassen; das Tatsachenmaterial ist heute noch ziemlich lückenhaft und hätte die weitere Verfolgung der Caulom-Phyllobeziehungen nur eine scharfe Polemik, namentlich seitens der extremen Morphologen, zur Folge, eine Polemik, die ich zwar nicht fürchte, jedoch im Interesse der Sache heute für verfrüht halte.

Die von mir untersuchten Blattrandrollungen, die mit Küster bald auf eine kurze Strecke beschränkt bleiben, bald ganze Blätter deformieren können, gehören zu den histioiden Gallen. Küster (54) unterscheidet hierbei scharf abgesonderte Blattrollen, die sich durch Farbe, Form und Konsistenz von den benachbarten Geweben unterscheiden, wie die Pemphigusgallen auf *Pistacia terebinthus* und solche, wo der Übergang vom Gallengewebe ins normale ein allmählicher ist, wie die Galle der *Aphis atriplicis* auf *Atriplex*. Diese morphologisch naheliegende Unterscheidung wird sich indessen nicht immer mit der wünschenswerten Genauigkeit durchführen lassen, wie die anatomischen Bilder zeigen werden, und gibt uns kaum ein brauchbares Einteilungsprinzip der Gallrollen an die Hand. Ein weiterer Unterschied ergibt sich, je nachdem, ob die Galle nach oben (involutiv) oder nach unten (revolutiv) gerollt ist.

In morphologisch-floristisch-systematischer Hinsicht sind die Gallen der Blattläuse in zahlreichen Abhandlungen Gegenstand der Besprechung gewesen. Ohne Vollständigkeit anzustreben, verweise ich auf die grundlegenden Werke, die sich ausschließlich oder doch zum großen Teile mit Blattlausgallen beschäftigen, wie: C. Houard (37), H. Schouteden (92), A. v. Kerner (44) [l. c.]; eingehende Beschreibungen finden sich bei A. B. Frank (23), bei Sorauer in den von Börner behandelten Kapiteln (95); in zahlreichen kleineren und größeren Ar-

<sup>11)</sup> Zweigelt, F., Was sind die Phyllokladien der Asparageen? (Österr. bot. Zeitschr. 1913.)

<sup>37)</sup> Houard, C., Les zoocécidies des plantes d'Europe et du bassin de la Méditerranée. T. 1 u. 2. Paris 1908.

<sup>92)</sup> Schouteden, H., Les aphidiocécidies paléarctiques. (Ann. de la soc. entomol. d. Belgique. T. 47. 1903. p. 167.)

<sup>23)</sup> Frank, A. B., Die Krankheiten der Pflanzen. 2. Aufl. 3. Breslau 1896.

<sup>95)</sup> Sorauer, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 3. Aufl. Bd. 3.

beiten von J. S. Tavares (96), A. Trotter (102), G. Cecconi (7), bei C. Houard (39), in der Zusammenstellung von Rudow (82), in verschiedenen Abhandlungen von J. und W. Docters v. Leeuwen-Rijnvaan (15, 16), bei L. Geisenheyner (24) (über Aphiden- und Coccidengallen); Einzelbeschreibungen bei J. und W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (14) einer Aphidengalle auf *Schoutenia ovata*, bei H. Schmidt (90) einer Blattlausgalle auf *Crataegus*, A. Lécaillon (57) bespricht die Veränderungen an den Blättern der Runkelrübe durch die Saugwirkung der *Aphis papaveris* Fabr., E. Molz (72) eine *Chermes* auf *Abies nobilis*.

Mit den *Pemphigus*-gallen befaßten sich A. Tullgren (104) [l. c.] (*Pemphigus bumeliae*, *nidificus*, *xylostei*, *borealis*, *Lichtensteini*, *protospirae*, *spirothecae*), M. A. Derbès (11) auf *Pistacia*, Ew. Rübsaamen (85), H. F. Keßler (45) auf Pappeln, M. Schneider-Orelli (91) für Nordafrika, J. J. Kieffer (47) u. a. Für die Schizoneura- und Tetraneuragallen verweise ich — zunächst von der Anatomie abgesehen — auf die morphologische Behandlung durch A. Tullgren (104), H. F. Keßler (46) u. a.

Ausschließlich systematischen Gesichtspunkten dienen Abhandlungen wie von H. Schouteden (93), dann die grundlegenden Werke von C. L. Koch (48), G. B. Buckton (3) u. a. Erwähnt seien noch die Notizen von Schumacher (94) und Schmidt (89), die die Galle einer Wanzenlarve (*Monanthia echii*) auf

<sup>96)</sup> Tavares, J. S., *Synopse des zooecidias portuguezas*. (Brotéria. T. 4. 1905.)

<sup>102)</sup> Trotter, A., *Nuovi zooecidii della flora italiana*. (Marcellia. 1903. p. 7 ff.)

<sup>7)</sup> Cecconi, G., *Zooecidi della Sardegna*. (Marcellia. 1903. p. 24 ff.)

<sup>39)</sup> Houard, C., *Les collections cécidologiques du laboratoire d'entomologie du muséum etc.* (Marcellia. 1914. p. 24.)

<sup>82)</sup> Rudow, *Einige merkwürdige Gallenbildungen*. (Entomol. Jahrb. 1907. p. 73.)

<sup>15)</sup> Docters van Leeuwen-Rijnvaan, J. u. W., *Einige Gallen aus Java*. 3. Beitrag. (Marcellia. 1910. p. 37.)

<sup>16)</sup> Docters van Leeuwen-Rijnvaan, J. u. W., *Einige Gallen aus Java*. 4. Beitrag. (Marcellia. 1910. p. 168.)

<sup>24)</sup> Geisenheyner, L., *Über einige neue und seltenere Zooecidien aus dem Nahegebiet*. (Allgem. Zeitschr. f. Entomol. Bd. 7. 1902. p. 306.)

<sup>14)</sup> Docters van Leeuwen-Rijnvaan, J. u. W., *Einige Gallen aus Java*. 2. Beitrag. (Marcellia. 1909.)

<sup>90)</sup> Schmidt, H., *Eine neue Blattlausgalle an Crataegus oxyacantha L.* (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 21. 1911. p. 133.)

<sup>57)</sup> Lécaillon, A., *Sur un Puceron (Aphis papaveris Fabr.), ennemi de la Betterave [Hém.]*. (Bull. de la soc. entomol. d. France. 1905. p. 258—260.)

<sup>72)</sup> Molz, E., *Einige Bemerkungen über die durch Chermes piceae v. Bouvieri auf Abies nobilis hervorgerufenen Triebspitzengallen*. (Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landw. 1908. p. 151.)

<sup>11)</sup> Derbès, M. A., *Troisième note sur les pucerons du Térébinthe*. (Ann. d. scienc. natur. Sér. 6. Zool. et Paléont. T. 12. 1881. p. 1.)

<sup>85)</sup> Rübsaamen, Ew., *Über Zooecidien der Balkanhalbinsel*. (Illustr. Zeitschr. f. Entomol. Bd. 5. 1900. p. 177, 194.)

<sup>45)</sup> Keßler, H. F., *Neue Beobachtungen und Entdeckungen an den auf Ulmus campestris L. vorkommenden Aphidenarten*. (26. u. 27. Jahresber. d. Ver. f. Naturk. Kassel. 1880.)

<sup>91)</sup> Schneider-Orelli, M., *Über nordafrikanische Zooecidien*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 32. 1912. p. 468.)

<sup>47)</sup> Kieffer, J. J., *Description des galles et d'insectes gallicoles d'Asie*. (Marcellia. 1908. p. 149.)

<sup>93)</sup> Schouteden, H., *Description de deux aphides cécidogènes nouveaux*. (Brotéria. T. 4. 1905. p. 163.)

<sup>48)</sup> Koch, C. L., *Die Pflanzenläuse, Aphiden*. Nürnberg 1857.

<sup>3)</sup> Buckton, G. B., *Monograph of the British Aphides*. London 1876.

<sup>94)</sup> Schumacher, F., *Über einige Heteropteroecidien*. (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 8. 1912. p. 225.)

<sup>89)</sup> Schmidt, H., *Zooecidien an Anchusa officinalis L.* (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 5. 1909. p. 402.)

*Anchusa officinalis* beschreiben, die sich als Zurückrollung und Kräuselung der Blätter darstellt. Auf weitere morphologische Arbeiten werden wir noch bei Betrachtung der Blattrollungen zurückkommen und dabei speziell auch die Thysanoptergallen streifen müssen, weil ihr Vergleich mit unseren Blattlausgallen von außerordentlicher Wichtigkeit ist.

Mit der Morphologie der Coccidengallen, die wir mit Rücksicht auf manche Übereinstimmung nicht umgehen konnten, beschäftigten sich Lindinger (59), der überdies in seinem Schildlausbuch (58) eine Aufzählung der gallenerzeugenden Schildläuse bringt, ferner L. Geisenheyner (24) für *Hieracium praecox*; Rübsaamen (86) macht auf den relativ hohen Organisationsgrad und komplizierten Bau aufmerksam, den Coccidengallen der Gattung *Apiomorpha* u. a. erreichen können, bespricht an anderer Stelle (84) eine Coccidengalle auf *Globularia salicina* und beschreibt in einer jüngeren Arbeit (83) eine Coccidengalle, die gestaltlich an *Mikiola fagi* erinnert. M. W. Beijerinck (2) verdanken wir Mitteilungen über den galligenen Einfluß, den Cocciden verschiedener Gattungen auf *Eucalyptus* pflanzen ausüben. Dieser Auszug aus der morphologisch-systematisch-floristischen Literatur, dem sich noch manche Arbeit anschließen ließe, mag genügen.

Neben dieser, immerhin stattlichen Zahl spielen die anatomisch-physiologischen Arbeiten eine bescheidene Rolle. Ältere und zum Teile heute noch grundlegende Untersuchungen stammen von L. Courcelet (9, 10) [l. c.], der die Anatomie der Pemphigusgallen auf *Pistacia*, Schwarzpappel, der Schizoneura- und Tetraneuragallen auf *Ulmus* ausführlich bringt. Zahlreiche anatomische Details finden sich bei Abbé Pierre (75) über eine vermutliche Coccidengalle auf *Teucrium*, den morphologischen Tatsachen haben anatomische Details angefügt A. Tschirch (103) [l. c.] für die *Astegopteryx* galle, Diels (12) [l. c.] für die Blütencecidie auf *Lonicera*, J. u. W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (18) für die rhizomähnlichen Umbildungen an oberirdischen Trieben von *Psilotum triquetrum* unter dem Einflusse eines Cocciden.

Schon Lacaze-Duthiers (56) veröffentlichte anatomische Angaben für die Pappel- und Ulmenblattlausgallen, welche letztere, außer in chemischer Hinsicht, auch vom anatomischen Gesichtspunkte in jüngster Zeit durch M. Molliard (71) eine überaus gründliche Bearbeitung erfahren haben. Wichtig sind die Untersuchungen von C. Houard (38) über *Asterolecanium* gallen, auf die noch wiederholt zurückzukommen sein wird. Außer Küstenmacher (49) sei hier noch Pril-

<sup>59)</sup> Lindinger, L., Eine weitverbreitete gallenerzeugende Schildlaus. (Marcellia. 1912. p. 3.)

<sup>58)</sup> Lindinger, L., Die Schildläuse, Coccidae. Stuttgart 1912.

<sup>86)</sup> Rübsaamen, Ew. H., Über australische Zoocecidien und deren Erzeuger. (Berlin. Entom. Zeitschr. Bd. 39. 1894. p. 199.)

<sup>84)</sup> Rübsaamen, Ew. H., Über Zoocecidien von den Kanarischen Inseln und Madeira. (Marcellia. 1902. p. 60.)

<sup>83)</sup> Rübsaamen, Ew. H., Beiträge zur Kenntnis außereuropäischer Zoocecidien. (Marcellia. 1910. p. 3.)

<sup>2)</sup> Beijerinck, M. W., Eucalyptusgallen. (Nederl. Konink. Arch. Ser. 2. Bd. 6. 1895.)

<sup>9)</sup> Courcelet, L., Étude sur le groupe des aphides et en particulier sur les pucerons du térébinthe et du lentisque. Montpellier 1878.

<sup>75)</sup> Pierre, Abbé, Nouvelles cécidologie du centre de la France. (Marcellia. 1902. p. 95.)

<sup>18)</sup> Docters van Leeuwen-Rijnvaan, J. u. W., Kleinere cecidologische Mitteilungen. III. Über die unter dem Einfluß eines Cocciden entstandenen Umbildungen der oberirdischen Triebe von *Psilotum triquetrum* Sw. in dem Rhizom ähnlich gebaute Wucherungen. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 29. 1911. p. 166.)

<sup>56)</sup> Lacaze-Duthiers, Recherches pour servir à l'histoire des galles. (Ann. d. scienc. nat. Sér. 3. Botan. T. 19. 1853. p. 273.)

<sup>71)</sup> Molliard, M., Recherches physiologiques sur les galles. (Rev. génér. de Botan. 25. 1913. p. 225, 285, 341.)

<sup>38)</sup> Houard, C., Action de cécidozoaires-externes, appartenant au genre *Asterolecanium* sur les tissus de quelques tiges. (Marcellia. 1911. p. 3.)

<sup>49)</sup> Küstenmacher, Beiträge zur Kenntnis der Gallenbildung mit Berücksichtigung des Gerbstoffes. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 26. 1894. p. 82.)

lieux (76) genannt, dem wir wertvolle allgemeine Auffassungen über die Anatomie und Entwicklung der Gallen verdanken.

Noch spärlicher sind die Arbeiten über Blattlausgallen vom chemisch-physiologischen Standpunkte. Küstenmacher (49) [l. c.] verdanken wir zahlreiche Angaben über die Rolle der Oxalsäure usf. in den Gallen von *Chermes abietis* u. a., wobei allerdings sein Terminus „Nährepidermis“ im „Anhang“ wird abgelehnt werden müssen. M. Molliard hatte schon in einer früheren Arbeit (70) die chemischen Merkmale der Gallen von *Adelges abietis* auf *Picea excelsa*, *Tetraneura ulmi* und *Schizoneura lanuginosa* vergleichend mit den Merkmalen von Früchten besprochen und kommt nun in der oben zitierten, außerordentlich schönen Arbeit umfassend auf den Chemismus der beiden zuletzt genannten Gallen nochmals zurück. Seine Untersuchungen, die wir ihrer Wichtigkeit halber hier kurz berühren wollen, umfassen den Wassergehalt, Aschenanalyse, Zuckergehalt, freie Säure, Gerbstoffgehalt u. a. Demnach stellt sich der Wassergehalt in den bezüglichen Gallen außerordentlich viel höher als in normalen Blättern, die Gallen sind ferner gekennzeichnet durch eine Verminderung des Gehaltes an Silicium, Calcium und Mangan, dagegen eine Vermehrung desselben an Schwefel, Phosphor und Potasche. Weiteres „il y a un peu plus de carbone et d'oxygène, il existe au contraire sensiblement moins d'hydrogène.“ Den geringeren Gehalt an Zucker spezifiziert Molliard dahin: „absence totale de saccharose, aux beaucoup plus élevé de sucres réducteurs et de glucosides solubles dans l'alcool, diminution au contraire des polysaccharides, insolubles dans l'alcool, autre que le mucilage.“ Schließlich fand Molliard in beiden Gallen eine sehr deutliche Vermehrung der freien Säure, und etwa vierfach so hohen Gerbstoffgehalt als in normalen Blättern. An größeren, einschlägigen Untersuchungen erwähne ich noch die Abhandlung von F. Roncali über die *Pemphigus cornicularius*-Galle (81). Besonders interessant sind seine Untersuchungsergebnisse über die chemischen Verschiedenheiten zwischen jungen und alten Gallen, die er am Schlusse seiner Arbeit anführt: „Riguardo alle modificazioni che subisce la galla colla maturazione protratta, risulta dei dati analitici una diminuzione nelle percentuale della resina, rilevante soprattutto nelle porzione bollente azotate, zucchero glucosidico e cellulosa, invece la quantità di tannino si conserva presso che uguale nei due stadii della galla.“ Mit *Pemphigus cornicularius* hält Roncali auch den Chemismus der *Pemphigus utricularius*, *follicularius*, *semilunarius* und *lidus*-Gallen für identisch.

Meine Untersuchungen erstreckten sich auf 6 Blattrollgallen, die sich auf 4 Pflanzengattungen verteilen, teils involutiv, teils revolutiv sind. Im Frühjahr 1914 fand ich auf *Lonicera xylosteum* Blattrollen nach oben, die das ganze Blatt umfaßten, an den größeren Nerven die Biegungszonen hatten und deren Ränder ein Stück übereinandergriffen, ohne sich allerdings zu berühren, so daß das Ein- und Auswandern der Läuse, die in großen Mengen innen wie außen saßen, leicht möglich war. Da ich das Material, um es für meine Zwecke zu erhalten, rasch konservierte, wobei die Tiere ihre Farbe einbüßten, mir diese Galle aber außer an diesem einen Blatte nirgends sonst begegnet ist, war mir die Bestimmung des Erregers leider nicht möglich. Nach C. Howard (37) [l. c.] kann es *Siphocoryne lonicerae* Siebold, die auch von H. Schouteden (92) [l. c.] beschrieben ist, nicht sein, da deren Gallen nach unten und nicht nach oben gerollt sind. Es wäre nach der Sachlage nur an die von C. Howard unter No. 5373 erwähnte, unbestimmte Aphidengalle zu denken, deren Charakteristik Howard mit „Enroulement par en haut avec décoloration de la partie enroulée“ angibt. Gegen eine Identifizierung dieser Galle mit meiner spricht aber ein Vergleich mit seiner beigegebenen Abbildung p. 927.

<sup>76)</sup> Prillieux, M. Ed., Étude sur la formation et le développement de quelques galles. (Ann. d. scienc. natur. Sér. 6. Botan. T. 3. 1876. p. 113.)

<sup>70)</sup> Molliard, M., Comparaison des galles et des fruits au point de vue physiologique. (Bull. soc. botan. de France. T. 59. 1912. p. 201.)

<sup>81)</sup> Roncali, F., Contributo allo studio della composizione chimica delle galles. Nota II. La galla del *Pemphigus cornicularius*. (Marcellia. 1905. p. 26.)

In meinem Falle war das ganze Blatt lediglich gefaltet, nicht aber bloß der Blatt-  
rand zurückgerollt, dessen Konsistenz überdies, aus der Zeichnung zu schließen,  
von der Beschaffenheit des übrigen Blattgewebes erheblich abweichen dürfte.  
Im Verlauf dieser Abhandlung werde ich diese Galle stets als *Aphidengalle* auf *Lonicera* aufführen. In der Gallensammlung des K. K.  
naturhistorischen Hofmuseums in Wien ist eine Galle eingestellt, die mit der  
von C. Houard erwähnten identifiziert wird, sich aber wesentlich von  
der meinen unterscheidet.

Auf derselben Wirtspflanze fand ich noch schwach nach unten gerollte  
Blätter, die in großer Zahl mit den Läusen der Gattung *Prociphilus*  
(*Pemphigus*) *xylostei* D. G. besetzt waren und für welche O. Tullgren  
(104) [l. c.] folgende Beschreibung gibt: „Durch das Saugen werden die Blätter  
alsbald an der Spitze oder an einer oder an beiden Seiten mehr oder weniger  
gebogen oder gekräuselt. Sind die Tiere ungemein zahlreich, so werden die  
Sprosse gänzlich zerstört und vertrocknet. Seltener trifft man Läuse an vor-  
jährigen Zweigen saugend an und dann immer an der Unterseite der mehr  
oder weniger horizontal gerichteten Zweige.“ (Vgl. auch seine Abb. 43.)  
Diese Galle, für die auch H. Schouteden (92) [l. c.] und C. Houard  
Beschreibungen geben, zu untersuchen, war für mich von größter Bedeutung,  
denn sie wurde geradezu zum Schlüssel für die Erklärung der inneren Ur-  
sachen der Blattrollung an von Blattläusen befallenen Blättern. Der Kürze  
halber wird diese Galle im Text stets als *Prociphilugalle* auf  
*Lonicera* aufgeführt werden.

Auf *Fraxinus excelsior* hatte ich die von C. Houard  
p. 805 beschriebene *Prociphilus* (*Pemphigus*) *nidificus*  
Löw-Galle zu untersuchen, Gelegenheit. Für diese Galle, die nach Börner  
in Soraue (95) [l. c.] mit der *Prociphilus-bumeliae* Schrank-  
Galle große Ähnlichkeit hat (vgl. auch A. Tullgren, Fig. 30, p. 82),  
gibt Schouteden (92) [l. c.] folgende Charakteristik: „Les feuilles  
de l'extrémité des rameaux sont rapprochées, crispées, recourbées vers le  
bas, formant ainsi une agglomération plus ou moins arrondie“. Im Verlaufe  
der Besprechung wird diese Galle als *Prociphilugalle* auf *Fra-*  
*xinus* von der bezüglich auf *Lonicera* unterschieden werden.

Eine eigentümliche Galle habe ich auf *Prunus domestica*  
gefunden, die, wie wir sehen werden, die ursprüngliche Gestalt und Struktur  
des Blattes am weitesten eingebüßt hat. Mir standen mehrere Exemplare  
zur Verfügung, die gestaltlich außerordentlich stark voneinander abwichen.  
War der Mittelnerv nicht in Mitleidenschaft gezogen, so kam es zu einer  
mehrmaligen, spiraligen Einrollung des infizierten Blattrandes nach oben.  
Die hierbei verbrauchte Blattlamina war im allgemeinen ziemlich breit, jeden-  
falls viel breiter als an anderen Exemplaren, die eine Umklappung der Blatt-  
spreite längs des Mittelnervs nach oben erfahren hatten. Die hier in der Breite  
außerordentlich reduzierte Blattlamina wies die mannigfaltigsten, unregel-  
mäßigen Faltungen, Krümmungen und Buchtungen auf, so daß die beiden  
Spreitenhälften sich entweder eng, einen nur schmalen Spalt zwischen sich  
freilassend, aneinander legten, oder einen großen Hohlraum umspannen,  
oder aber beide Flügel waren parallel, in demselben Sinne verbogen, so daß  
der eine eine Krümmung nach oben, der andere gleichzeitig eine solche nach  
unten aufwies. Von den hierfür als Erreger in Betracht kommenden, von  
C. Houard angeführten Aphiden: *Hyalopterus pruni* Fabr.,  
*Aphis pruni* Koch und *Aphis cerasi* scheidet *Aphis pruni*

von vornherein aus, weil Koch (48) [l. c.] ausdrücklich anführt: Die Blätter krümmen sich durch die Verletzung nach abwärts, werden blasig und kraus und bilden nicht ungewöhnlich durch Zusammenrollung einen verschlossenen Behälter für die Tierchen.“ Auch *Hyalopterus pruni* als Erreger anzunehmen, ist unwahrscheinlich, da nach Koch, übereinstimmend mit den Angaben Börners, sich die Läuse konstant auf der Unterseite festsetzen, während in unserem Falle die weitaus überwiegende Mehrzahl der Läuse sich oben aufhielt. In der Gallensammlung des K. K. Hofmuseums scheint die Genauigkeit nicht über C. Howard hinausgeführt. Nach Sammlungsobjekten ist auch *Myzus mahaleb* Koch auf *Prunus mahaleb* ausgeschlossen, da die Galle ebenfalls revolutiv, und nicht involutiv ist. Ob es sich demnach um *Aphis cerasi* handelt, bleibt unentschieden. Leider war mir eine genauere Bestimmung des Materials, das mir von befreundeter Seite in konserviertem Zustand zugeschickt worden war und das ich kurz als Prunusgalle bezeichnen werde, nicht möglich.

Die zwei letzten Gallen befanden sich auf *Pirus malus*. Es waren dies einmal Blattkräuselungen durch die an Triebspitzen sowohl als auch an jungen Blättern unterseits sitzenden und saugenden Kolonien der *Aphis pomi* D. G. [= *A. mali*; vergl. auch G. A. Buckton (3) [l. c.]. Die Blätter waren weitbuchtig nach unten gerollt, der Länge wie der Quere nach, und zeigten überdies die zwischen den stärkeren Nerven liegenden Blattpartien kalottenartig vorgewölbt und an den entsprechenden Stellen der Blattunterseite analoge Eindellungen. — Ferner die auffälligen, roten Rollgallen von *Aphis oxycanthae* Koch, von welchen Mibbildungen entweder nur ein, oder beide Blattränder betroffen waren, die dann fleischige Konsistenz zeigten und kanalartige Räume für die Blattläuse bildeten. Der Mittelnerv selbst war zumeist nicht in Mitleidenschaft gezogen, wohl aber schon das unmittelbar anschließende Gewebe der Blattspreite. Diese Galle wird von C. Howard, J. J. Tavares (96) [l. c.] und H. Schouteden, von letzterem mit folgenden Merkmalen beschrieben: “Les feuilles atteintes, en général isolées, présentant à la face supérieure de bosselures colorées; d’autres fois le limbe est replié de chaque côté de la nervure médiane, bosselé et coloré en rouge.”

Konserviert wurde das Untersuchungsmaterial teils in hochprozentigem Alkohol, teils in alkoholischer Sublimatlösung und in Paraffin geschnitten; schließlich vorwiegend mit Safranin (halb alkoholische, halb wässrige Lösung) oder mit Safranin und zugleich Ehrlichs Haematoxylin gefärbt; diese letztere Methode scheint mir in mancher Hinsicht sehr empfehlenswert. Bei der Wichtigkeit, das Gewebe gleichzeitig mit dem Verlauf der Stichkanäle verfolgen zu können, war eine Färbung mit Safranin allein nicht immer scharf genug; die erwähnte Doppelfärbung ließ aber alle Zellwände tiefblau erscheinen und bot zugleich den Vorteil, alle verholzten Elemente an ihrer roten Farbe sofort zu erkennen, was bei der Wichtigkeit der Frage nach dem Grade der Verholzung in Geweben der Galle von besonderem Werte ist. Außer dem Speichelsekrete erschienen bei sorgfältiger Differenzierung die Zellkerne rot, die Protoplasten bläulich. Wo es galt, speziell zytologische Details zu studieren, wurde die Dreifarbenmethode (Safranin, Gentianaviolett, Orange) angewendet.

Über die Wege und Ziele der Gallenforschung haben bereits F. Weidel (107)

<sup>107)</sup> Weidel, J., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte und vergleichenden Anatomie der Cynipidengallen der Eiche. (Flora. N. F. Bd. 2. 1911. p. 279.)

und E. Küster (52) gesprochen. Man kann mit Weidel „einerseits versuchen, auf das genaueste die anatomischen Verhältnisse klarzulegen, welche bei der Entwicklung der Galle vor sich gehen, und daraus Rückschlüsse auf die Art des Reizes ziehen; andererseits kann man die anatomischen Elemente der Gallen untereinander und mit den normalen der Mutterpflanze vergleichen, um so zu sehen, ob und welche Mannigfaltigkeit vorliegt und auch wieder diese zu Rückschlüssen auf das Wesen der Gallbildung benutzen.“ In ähnlicher Präzisierung betont Küster (52) [l. c. p. 538] speziell, wie wichtig es wäre, die Leistungsfähigkeit der einzelnen bei der Gallbildung beteiligten Gewebe zu ermitteln. „Offenbar sind die verschiedenen Organe und Gewebe bestimmten cecidiogenen Reizen gegenüber in ihrer Empfindlichkeit und Reaktionsfähigkeit nicht gleichwertig.“ Das Studium dieses letzteren Problems nun halte ich für außerordentlich wichtig, und im 2. Hauptkapitel habe ich zu zeigen versucht, daß es tatsächlich eine Reaktivitätsdifferenzierung der Pflanzengewebe gibt.

Die anatomischen Veränderungen der Pflanzengewebe aufzudecken und aus der Pflanze heraus die Veränderungen als Aktivität der Pflanzenzellen zu erklären, war die eine Seite der Aufgabe; den Zusammenhang, den solche Veränderungen mit äußeren Einflüssen, den cecidiogenen Reizen, haben, aufzufinden, jene demnach zugleich als Reaktivität der Pflanzenzellen auf diese zu erklären, die zweite Seite. Die Forderung E. Küsters (51) kann ich nur nachdrücklichst wiederholen, daß die histogenetischen Vorgänge, deren Gesamtheit die Entwicklung einer Galle darstellen, stets derart zu analysieren sind, „daß wir diejenigen Prozesse, die als spezifische Wirkung des Giftes aufzufinden sind, zu trennen suchen von denjenigen, die mit der Gegenwart und den Giftwirkungen direkt nichts zu tun haben,“ eine Aufgabe, deren Lösung Küster mit vollem Rechte unter die Kardinalforderungen der Gallenforschung stellt. Wir haben gar kein Recht, bestimmte cytologische oder anatomische Veränderungen, also die Gesamtheit der Hypoplasien, Hypertrophien und Hyperplasien, die sich an den Gallen finden, direkt auf galligene Reize zurückzuführen und zu sagen: Deshalb, weil hier eine Blattlaus gesaugt hat, deshalb ist die Galle so und nicht anders entstanden, deshalb etwa hätten sich aus den normalen Blättern von *Salix* Mitteldinge zwischen Blatt und Stamm gebildet, die Gallbildung also der Hauptsache nach als Aktivität der saugenden Laus, und nicht vielmehr als Aktivität der lebenden Pflanzenzellen, freilich reaktiv auf einen, bestimmte Entwicklungsmöglichkeiten auslösenden Reiz zu erklären.

Wir werden im Kapitel „Aetiologie“ sehen, wie außerordentlich schwer es ist, überhaupt solche Zusammenhänge aufzufinden, ja, daß es vielfach bei dem heutigen Stande unserer Kenntnisse noch unmöglich ist, gewisse Phänomene zu erklären, und daß wir uns damit werden begnügen müssen, gewisse allgemeine Grundsätze festzulegen, die für die Blattlausgallen gemeinsam gelten. Alle die ausführlich zu behandelnden anatomischen Veränderungen werden uns zunächst hauptsächlich interessieren vom Standpunkte der Aktivität des Pflanzengewebes und es wird sich zeigen, daß gewisse Elemente

<sup>52)</sup> Küster, E. Über einige wichtige Fragen der pathologischen Pflanzenanatomie. (Biolog. Centralbl. Bd. 20. 1900. p. 529.)

<sup>51)</sup> Küster, E., Cecidiologische Notizen. 2. Über zwei einheimische Milbengallen, *Eriophyes diversipunctatus* und *E. fraxinicola*. (Flora. Bd. 92. 1903. p. 380.)



eine größere Aktivität bekunden und daß ihr Vorhandensein, also das aus inneren Gründen geförderte Wachstum bestimmter Gewebe die Entwicklungsfrage der Blattrollen, die ich zum Hauptthema gewählt habe, entscheidet. Diese die Entwicklungsmechanik der Pflanze berührenden Untersuchungsergebnisse sind aber noch von einem anderen Gesichtspunkte aus wertvoll. Das an normalen Organen waltende Gleichgewicht der Gewebe zu erklären, ist zumeist außerordentlich schwer, und gerade hierin scheint die Gallenuntersuchung berufen, Aufklärung zu geben, da wir die Rolle bestimmter Gewebe ganz anders werden einschätzen können, wenn wir ihre Wirkung bei bestimmten pathologischen Veränderungen der Nachbargewebe, beziehungsweise ihre passiven Veränderungen unter dem Einflusse eines Übergewichtes von wo anders her, gesehen haben und somit wieder auf die Gleichgewichtsrolle der einzelnen Komponenten des normalen Blattgewebes zurückschließen können.

Um jedem Mißverständnis zu begegnen und die Leistung von Tier und Pflanze bei der Gallenbildung streng auseinander zu halten, habe ich in den beiden ersten Kapiteln die Erwähnung der Tiere streng vermieden, hingegen im dritten Kapitel die anatomischen Bilder nur soweit herangezogen, als sie aus der Pflanze heraus nicht erklärt werden konnten, und zu zeigen versucht, ob und welche Beziehungen zwischen den saugenden Parasiten und dem Auftreten bestimmter pathologischer Veränderungen obwalten. So wurde es möglich, zu erkennen, was die Tiere bei der Gallenbildung leisten, bzw. was sie nicht leisten, wodurch sie es leisten und unter welchen Bedingungen, und in welchem Umfange sie aktiv auftreten und eine Reaktion der Pflanzengewebe nach sich ziehen.

Meine Arbeit zerfällt demnach in folgende Abschnitte:

I. *Descriptive pathologische und vergleichende Anatomie*, bringt die anatomischen Veränderungen der normalen Blätter bei der Gallenbildung.

II. *Physiologische Anatomie*; ein Kapitel, das in bezug auf die normalen Blattfunktionen nur Bruchstücke bringt und nur im Abschnitt „Wie entstehen die Blattrollen?“ einige Vollständigkeit beansprucht. Dieses Kapitel hier einheitlich und zusammenhängend zu bringen, war aus Gründen der Übersicht geboten, obwohl es nicht zu umgehen war, dort auch morphologische und andere Besprechungen einzuschalten; nicht zu vermeiden war dort schließlich die Erwähnung der einschlägigen, namentlich Thysanopterengallenliteratur, da sich wertvolle Parallelen zwischen ihnen und den Blattlausgallen zeigen und das Gallrollenproblem durch eine breite Basis an Wert und Interesse nur gewinnen kann.

III. *Aetiologie*, also die Aufsuchung der Rolle des Parasiten und der äußeren Bedingungen, die die Gallbildung fördern oder hemmen. Mein Bestreben war es hierbei, die Erscheinungen auf möglichst wenige Prinzipien zurückzuführen, wobei alles wegließ, was zu wenig begründet schien. Den Schluß bildet ein

IV. *Anhang*, in dem biologische Notizen, terminologische Fragen und einige Nachträge zum Saugphänomen Aufnahme finden sollen.

Bevor wir in die Details eingehen, sei nur noch ein Wort über die *Untersuchungsmethode* gestattet. Gleich meiner ersten Arbeit über das Saugphänomen, bildet auch hier die Untersuchung zahlreicher mikroskopischer Präparate die Quelle, aus der ich meine Anschauungen schöpfte und meine Theorien aufbaute. Ich bin wohl überzeugt, daß ich bei der fast ausschließ-

lich mikroskopischen Methode seitens mancher Forscher auf Widerstand stoßen werde, namentlich seitens jener, welche mehr auf experimentellem Wege die Erklärung der Gallbildung finden und geben wollen. Um Mißverständnissen vorzubeugen, will ich gleich hier bemerken, daß ich das Experiment in seiner Bedeutung für die Gallforschung keineswegs verkenne, es aber nur insoweit anerkennen kann, als man mit denselben Agentien, also in unserem Falle mit Blattläusen, arbeitet und als Experimentator nur insoweit Einfluß nimmt, als man Dauer des Saugens, Zahl der Läuse, Lage der Tiere an Ober- und Unterseite willkürlich bestimmt und Versuche auf die Reaktivität bestimmter Altersstufen des Wirtsgewebes bei nachträglich anatomischer Untersuchung des letzteren vornimmt. Solche Experimente liegen in meinem Plane und sollen in nicht zu ferner Zeit methodisch durchgeführt werden.

Allen anderen Methoden stehe ich jedoch äußerst skeptisch gegenüber; skeptisch namentlich jenen künstlichen Gallbildungen — oder Bestrebungen nach solchen — die durch chemische oder mechanische, nicht aber vom lebenden Organismus eines Parasiten ausgehende Reize erzielt, bzw. nicht erzielt worden sind. Denn was nützt es uns, frage ich, wenn es tatsächlich gelingt, durch ein Gift usw., das wir der Pflanze, um dem natürlichen Vorgang nahe zu kommen, einspritzen, eine gallenähnliche Wucherung zu erzeugen? Ohne dabei der vielen negativen Resultate zu gedenken, will ich nur fragen, habe ich damit auch jene Bedingungen erfüllt, die wir bei der saugenden Blattlaus vorfinden, bin ich dadurch wirklich dem natürlichen Vorgang nahegekommen? Wohl kaum. Denn sollte es auch wirklich einmal chemischen Methoden gelingen, irgendein dem Speichelsekret eigentümliches chemisches Agens, Gift, Enzym oder, was wir wollen, zu isolieren und damit operativ vorzugehen, können wir tatsächlich ein solches Agens so der Pflanze einverleiben, wie es die Blattlaus tut? Wird es jemals möglich sein, solche Reagenzien interzellulär zu injizieren und dabei eine Einstichnadel so geschickt zu führen, wie es das mit feinem Sinnesleben ausgestattete Borstenbündel tut? Und sollte alles das gelingen, könnten wir dann damit zu gleicher Zeit, an gleichem Orte und in gleicher Intensität auch die Saugtätigkeit des Tieres nachahmen, ohne die möglicherweise ein solches Gift an Aktivität erheblich einbüßen, ja eine solche gänzlich verlieren könnte? Wohl kaum, und ohne diese Grundlagen haben wir gar kein Recht, aus solchen Experimenten irgendwie sichere Schlüsse auf die Ursache der Gallbildung der Blattläuse zu ziehen. Überdies müßten wir den verschiedenen Grad der Giftigkeit des Speichelsekretes verschiedener Blattlausarten zu ermitteln suchen, um für die Tatsache, daß die eine Art Gallen erzeugt, eine andere nicht, eine Erklärung zu finden. Bei der Veränderlichkeit des Begriffes „Gift“ als Resultat von Aktivität und Reaktivität stehen wir hier vor nahezu unlösbaren Aufgaben.

Mögen künstliche Gallen äußerlich und auch im anatomischen Bau genau so aussehen wie echte Blattlausgallen, so ist doch der Weg vom ersten Reiz bis zur fertigen Galle ein so komplizierter, die Kette der Teilursachen und Teilwirkungen so reich an Gliedern, deren größter Teil auf physiologischem Gebiete liegt, daß sehr wohl gänzlich verschiedene Ausgangspunkte zu gleichen Resultaten führen können und wir nicht aus diesen auf jene zurückschließen, mit anderen Worten, nicht aus Experimenten mit irgendwelchen unbelebten Stoffen auf die Ursache der Gallenbildung durch Blattläuse schließen dürfen. Meine Untersuchungen werden zeigen, daß wir mit der mikroskopischen Methode manche Klarheit gewinnen können, die uns auf anderem Wege zweifellos versagt bliebe.

Mir scheint demnach der von mir eingeschlagene Weg als der am besten gangbare und derzeit einzig denkbare, um so mehr, als ja tatsächlich, wenigstens für die Aphidiocecidien, die anatomischen Details — offenbar aus den eingangs erwähnten Gründen — sehr wenig durchforscht sind und wir besser daran tun, zunächst das wichtigste, die gründliche Untersuchung, zu leisten, als gleich mit unbegründeten Hypothesen zu arbeiten und sprunghaften Schlüssen. In allen diesen Belangen war mir die vorangegangene Untersuchung des Saugphänomens und der direkten Giftwirkungen des Speichelsekretes sehr wertvoll, und ich möchte im Interesse der Gallenforschung nur wünschen, daß auch für andere Cecidozoa die Art der Nahrungsaufnahme und die direkte Beeinflussung der Pflanze durch dieselbe einer genauen Bearbeitung unterworfen würde.

An dieser Stelle möchte ich schließlich noch meinem hochgeschätzten Chef, Herrn Prof. Dr. Ludwig Linsbauer, für das in jeder Hinsicht in weitestem Maße bekundete Entgegenkommen, sowie für manche wertvolle Anregung während der Abfassung dieser Arbeit meinen besten und wärmsten Dank zum Ausdruck zu bringen.

### Descriptive pathologische und vergleichende Anatomie.

Die untersuchten 6 Blattrollgallen zeigten in anatomischer Hinsicht außerordentlich große Verschiedenheiten. Einmal gibt es da Gallen, wie die von *Aphis pomi* und des *Prociphilus* auf *Lonicera*, deren anatomisches Verhalten sich von einem eben in der Entwicklung begriffenen Blatte sehr wenig unterscheidet, so daß wir außer der eigentümlichen, in der normalen Entwicklung nicht begründeten Verkrümmung der Blattspreite und einigen passiven Veränderungen, auf die wir bei der Frage: „Wie entstehen die Blattrollen?“ noch zurückkommen werden, wenige bis gar keine Anhaltspunkte haben, das Gewebe als solches als pathologisch zu bezeichnen. Diese Behauptung gilt vor allem für die einfachste Galle: *Aphis pomi*, die wohl an der Grenze dessen steht, was wir Galle nennen sollen (vgl. auch im Anhang „Terminologie“) und die wir doch aus unserer Betrachtung nicht ausschließen dürfen, weil ihr Verhalten kein normales ist und wir überdies eine natürliche, vollkommen geschlossene Reihe von Blattlaus besiedelten, aber nicht zu Gallen gestempelten Blättern bis zu den mannigfachen, typischen Gallen vor uns haben, an der eine Grenze willkürlich anzunehmen, wir nicht das mindeste Recht haben. Die oben genannte *Prociphilus*galle ist gewissermaßen ein weiteres Entwicklungsstadium, es zeigen sich dort Veränderungen, die rein pathologisches Zellenwachstum darstellen und die uns namentlich bei der Theorie der Blattrollung durch Parasiten wertvolle Dienste leisten werden. Noch größer sind die Abweichungen von der normalen Anatomie bei der Aphidengalle auf *Lonicera*, außerordentlich stark bereits bei *Aphis oxyacanthae*, der *Fraxinus* — und am weitestgehenden wohl an der *Prunus*galle, die nur mehr an wenigen Punkten der Blattspreite Erinnerungen an den ursprünglichen Bau zeigt, im übrigen aber eine völlige Destruktion und Neukonstruktion in ihrem Innern verrät, wobei freilich die Gewebedifferenzierungen hinter dem normalen Blatte so stark zurückbleiben, daß wir die Zellen physiologisch als äquivalent bezeichnen dürfen, wenn wir damit die normalen Funktionen eines Laubblattes meinen.

Da sich sämtliche von mir untersuchten Gallen über diese Stufe nicht

27\*

erheben und im Sinne Prillieux's (76) [l. c.] jenem Stadium zu vergleichen wären, „dont la première phase consiste toujours dans la production par voie de cloisonnement“, ohne daß es zu einer Neubildung von Elementen käme, die in der normalen Ontogenie der betreffenden Pflanze nicht begründet wären, gehören demnach sämtlich in die Kategorie der Kataplasmen, wohin Küster (54) [l. c.] als Beispiele für Hemipteren (wohl zu verstehen: Homopteren!) *Myzoxylus laniger*, *Aphis oxyacanthae* und *Myzus ribis* bereits gestellt hatte. Alle diese Gallen machen, infolge der unterbliebenen Ausbildung normaler Gewebe, infolge des Mangels an physiologischer Differenzierung, den Eindruck unfertiger Bildungen. Als Belege für den bescheidenen Anteil, den Aphidengallen an den Prosoplasmen nehmen, nennt Küster die Gallen von *Pemphigus spirothecae* und *semilunarius*. Mögen auch, wie Küster (51) [l. c.] erwähnt, die Hemipteren [scilicet Wanzen] bereits an der Produktion starkwandiger Zellen in den Gallen teilnehmen, die Aphiden scheiden hiervon, wenigstens soweit sie Rollen erzeugen, jedenfalls aus.

Die anatomischen Veränderungen gehören zum kleineren Teil den Hypoplasien, zum weitaus größten Teile den Hypertrophien und Hyperplasien an. Da die von Küster ausgesprochene Möglichkeit, die Blattfaltung und -rollung so zu verstehen, daß diese der Knospenlage entspricht, letztere mithin erhalten geblieben wäre, die abnorme Bildung demnach nicht die Folge abnormen Wachstums sei, für die von mir untersuchten Blattlausgallen kaum zu Recht besteht, drängt sich die Frage auf, ob, da wohl nur die andere Möglichkeit bleibt, abnormes Wachstum anzunehmen, wir ein Recht haben, Gallen gelten zu lassen, die ausschließlich Hypoplasien, also Entwicklungshemmungen, darstellen. Diese Schwierigkeit ist bereits von mancher Seite erkannt worden; wir werden noch darauf zurückkommen; gleichwohl will ich, weil wenigstens die *Aphis pomigalle* keine deutliche Hypertrophie zeigt, diese Galle unter dem Abschnitte: Hypoplasien bringen und beschreiben, namentlich deshalb, um sie als einfachst organisiert und bedeutend tiefer stehend den übrigen gegenüberzustellen, obwohl, wie schon angedeutet, eine, wenn auch mikroskopisch kaum wahrnehmbare, relative Hypertrophie (auf diese Begriffsfassung kommen wir noch zurück) besonders der oberseitigen Elemente kaum abgelehnt werden kann, die zwar an einer Zelle sehr klein, als Summationswirkung aller jedoch bereits effektiv auftreten kann, worauf uns auch das passive Verhalten der entsprechenden Elemente der Unterseite führen wird. Die *Prociphilus xylosteigalle* soll bereits unter den Hypertrophien und Hyperplasien Aufnahme finden, da namentlich die Umgebung der Gefäßbündel, und dies besonders in dem ontogenetisch hinter dem übrigen Blattgewebe zurückgebliebenen Blattrande, deutlich pathologisches Wachstum der Zellen, ja sogar abnorme Zellteilungen zeigt.

Hypoplasien sind zweifellos häufig nichts anderes als temporäre Entwicklungsverzögerungen von Geweben, die später als normal doch wieder ihr gewöhnliches Aussehen erlangen können. Es wäre demnach zur Erklärung von Blattrollungen einfachster Art an ein pathologisches Entwicklungsgeschwindigkeitsgefälle von der einen Blattseite zur anderen zu denken, und es mag ganz dem Geschmacke des einzelnen überlassen sein, zu sagen: die eine Gewebszone ist gegenüber der anderen gefördert, oder diese in bezug auf jene in der Entwicklung gehemmt, solange wir über die normale Entwicklungsgeschwindigkeit bestimmter Gewebe kein genaues Urteil haben; eine dritte Möglichkeit wäre die, beides zugleich anzunehmen. Welche Auffassung

wir für die einzelnen Fälle werden heranziehen dürfen, soll in späteren Kapiteln zu zeigen versucht werden.

### I. Hypoplasie.

Die Kolonien der *Aphis pomi* finden sich gelegentlich, nicht aber ausschließlich, an den jungen Blättern der Frühjahrstriebe des Apfelbaumes und siedeln sich zum größten Teile an den Stengeln der jüngsten Partien

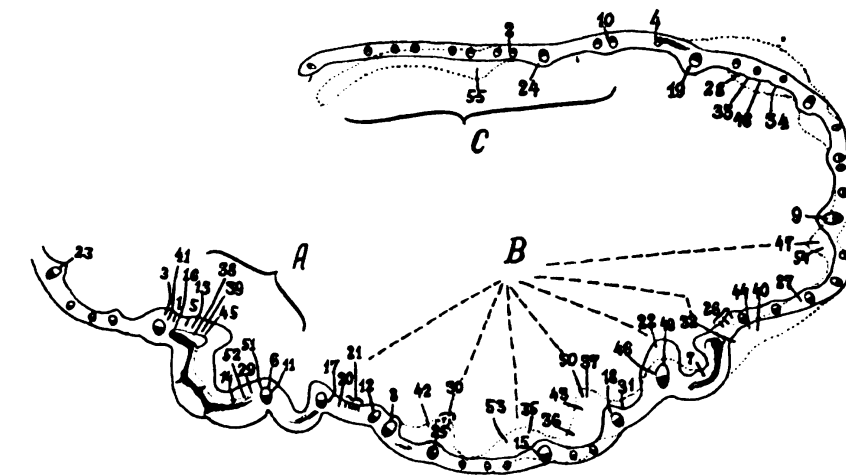


Fig. 1.

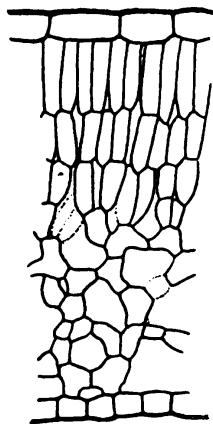


Fig. 2a.

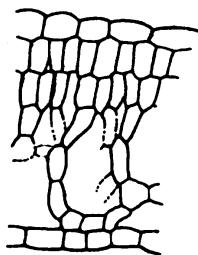


Fig. 2b.

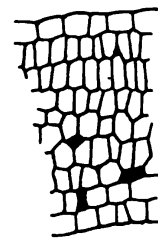


Fig. 2c.

an, aus denen sie genau so, wie ich das für viele andere Läuse gefunden habe (112) [l. c.], die Nahrung saugen, ohne daß es zu irgendeiner pathologischen Veränderung derselben im Sinne der Gallenbildung käme. Überdies befallen die Blattläuse hauptsächlich die jüngsten Blätter in großer Menge und finden sich an den älteren viel spärlicher ein, obwohl auch diese dadurch in die charakteristischen Quer- und Längsrollen umgeschaffen werden.

Ich hatte zwei verschieden alte, blattlausbesetzte Blätter zu untersuchen Gelegenheit. Das eine, dessen Lausebefall in Fig. 1 dargestellt ist, ist in Fig. 2c im Querschnitt festgehalten. Alle Zellen zeigen noch typisch meristematischen Charakter, die Epidermiszellen der Oberseite zarte Außenwände; an sie reiht sich das noch undifferenzierte und nur durch größeren

Chlorophyllgehalt gekennzeichnete Palisadengewebe von annähernd isodiametrischen oder wenig gestreckten Zellen an, die gestaltlich von den anschließenden Zellen des künftigen Schwammparenchyms wenig verschieden sind. Das letztere läßt seine künftige Bestimmung nur aus dem Auftreten größerer Interzellularräume erkennen. Die Epidermis der Unterseite, an der ich keine Spaltöffnungen gesehen habe, ist stellenweise faltig abgehoben. Das zweite, in der Entwicklung bereits vorgeschrittene Blatt veranschaulicht Fig. 2b. Wir finden bereits zwei Zellreihen typischen Palisadengewebes, die Epidermen sind größer, das Schwammparenchym mit großen Interzellularräumen hat fast normales Aussehen, die ventrale Epidermis ist mit Spaltöffnungen ausgerüstet. Verglichen mit dem Gewebe eines normalen Blattes (Fig. 2a), ergibt sich allerdings, daß auch das entwickeltere der beiden Blätter noch weit hinter dem fertigen Blatte zurücksteht und sich zu diesem etwa so wie ein Schattenblatt zum Sonnenblatt verhält: die Palisadenschichten sind an Zahl geringer, die Zellen niedriger, das Schwammparenchym einfacher; während im normalen Blatte fast die Hälfte des ganzen Querschnittes vom eigentlichen Assimilationsparenchym ausgefüllt ist, beschränkt es sich im affizierten auf etwa  $\frac{2}{5}$  desselben.

Solche ähnliche, einfache Gallen sind für Thysanopteren, Psylloden und andere Insekten als Erreger bekannt. Thomas (98) erwähnt hierfür die durch Psylloden verursachten Blattgrübchen, obwohl aus seiner Schilderung nicht hervorgeht, ob er die Verminderung der Interzellulargänge und damit das Durchsichtigwerden der Grübchen auf ein Stehenbleiben auf einem früheren Entwicklungsstadium oder nachträgliche Hypertrophie bestimmter Zellen zurückgeführt wissen will. Ähnliche Ansichten vertrat er (101) für Dipterengallen auf *Vaccinium*, für die er als anatomisches Charakteristikum Schwund und Degeneration bezeichnet. Zahlreiche Angaben finden wir bei A. Y. Grevillius (27) für Thysanopterengallen auf *Stellaria*: „die deformierten Blätter erleiden keine progressiv anatomischen Veränderungen. Das unter den zerstörten Epidermiszellen liegende Mesophyll zeigt nur eine Wachstumshemmung, wovon besonders die an jene grenzenden Zellen also in den meisten Fällen das Palisadenparenchym betroffen wird.“ „...die Größe sämtlicher Mesophyllzellen bleibt hinter der der normalen Blattpartien mehr oder weniger zurück. Auch erreichen die Interzellularräume nicht die gewöhnliche Ausdehnung.“ An anderer Stelle (26) kommt er auf die bezüglichen Gallen auf *Vicia cracca* zu sprechen und findet, daß sich die Zellen des oberseitigen Mesophylls nicht zu Palisaden ausbilden, sondern ihre isodiametrische Form beibehalten und das Chlorophyll verlieren. Eine große Menge einschlägiger Beispiele bringen H. Karny und J. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (42) für verschiedene Thysanopterengallen, die großen Teiles in die Kategorie der Blattrollen gehören.

<sup>98)</sup> Thomas, F., Durch Psylloden erzeugte Cecidien an *Aegopodium* und anderen Pflanzen. (Zeitschr. f. d. ges. Naturw. N. F. Bd. 12. 1875. p. 438.)

<sup>101)</sup> Thomas, F., Die Dipterocecidien von *Vaccinium uliginosum* mit Bemerkungen über Blattgrübchen und über terminologische Fragen. (Marcellia. 1902. p. 146.)

<sup>27)</sup> Grevillius, A. Y., Notizen über Thysanopterencecidien auf *Stellaria media* Cyr., *S. graminea* L. und *Polygonum convolvulus* L. (Marcellia. 1910. p. 161.)

<sup>26)</sup> Grevillius, A. Y., Ein Thysanopterencecidium auf *Vicia cracca* L. (Marcellia. 1909. p. 37.)

<sup>42)</sup> Karny, H., u. Docters van Leeuwen-Rijnvaan, J., Bei-

Im Zusammenhang mit dem einfacheren Bau des ganzen Blattes sind die Blattnerven ebenfalls sehr verschieden. Die Dicke des gesunden Blattes bringt es mit sich, daß in ihm die Seitennerven überhaupt viel stärker und viel mächtiger entwickelt sind als im befallenen. Von dieser Reduktion werden alle Elemente, die die Nerven konstituieren, betroffen; besonders auffällig ist aber der Mangel an jeglichen mechanischen Elementen der Nerven befallener junger Blätter. Im gesunden Blatte werden die Bündel der größeren Nerven zu beiden Seiten (unten stärker) von kräftigen Bastschienen begleitet, an die sich in der Richtung zur unteren Epidermis, stärker als an der Oberseite, Parenchymzellen anschließen, die mit der Nähe der Epidermis dickwandig werden und schließlich collenchymatischen Charakter annehmen. (Fig. 3.) Die Epidermiszellen selbst sind dort unmittelbar außerordentlich dick-

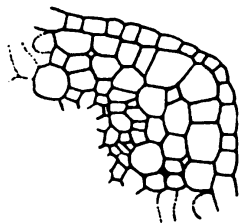


Fig. 3a.

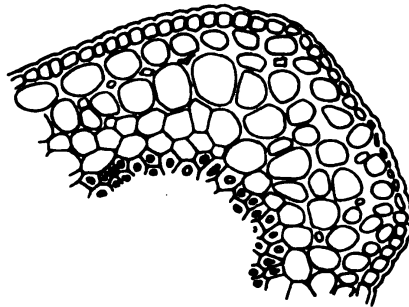


Fig. 3b.

wandig, so daß ihr Lumen in der Zone der größten Nervendicke fast völlig vernichtet erscheint. In den affizierten Blättern (und zwar bezieht sich diese Mitteilung auf das weiter entwickelte der beiden von mir untersuchten) fehlt jeder Bastbelag vollständig. Auch von Collenchym ist sozusagen nichts zu sehen, kaum daß einige Wände der äußersten Zellen um wenigstens etwas dicker sind als die der übrigen. Ebenso zart sind die Wände der unteren Epidermiszellen, die als einzige Erinnerung an die mächtige Wanddicke und Reduktion des Zellumens im gesunden Blatte hier in der besagten Zone niedriger sind als in größerer Entfernung vom Blattnerven. Auffallend ist, und das sei schon hier erwähnt, daß großzellige Elemente im Parenchym der Unterseite sich im kranken Blatte unmittelbar an die Epidermis anschließen, während solche Zellen im gesunden erst in größerer Entfernung von jener auftreten. Schließlich erwähne ich noch den Reichtum an kristallführenden Zellen in der Umgebung der Gefäßbündel, die den kranken Blättern zu fehlen scheinen, oder doch sicherlich nur äußerst spärlich auftreten. Die einfachen Haare an den Blättern finden sich auch an den Gallen.

## II. Hypertrophie und Hyperplasie.

### Zellen.

Auch für die Blattlausgallen gilt die Tatsache, daß die Zellen, gleichviel ob durch Hypertrophie oder zugleich auch Hyperplasie verändert, im Durchschnitt größer sind als normal, im Zusammenhang mit Wasserreichtum und Substanzarmut, worauf für einige Aphidengallen bereits E. Küster (54)

träge zur Kenntnis der Gallen auf Java. 5. Über die javanischen Thysanopterencecidien und deren Bewohner. (Bull. du Jard. botan. d. Buitenzorg. Sér. II. No. 10. 1913.)

[l. c.] p. 128 aufmerksam gemacht hat. Sind sie kleiner (vgl. auch L. Buscalioni und G. Muscatello (5), so ist das eine Folge lebhafter pathologischer Zellteilungen, wie das für manche Zonen der *Prunus*galle gilt. Die Größe und Form der von mir beobachteten Zellen ist außerordentlich variabel, bald sind sie isodiametrisch, häufig in 1 oder 2 Richtungen des Raumes gestreckt. Außerordentlich große Zellen fanden sich bei der *Fraxinus*-galle, ziemlich große in den Gallen von *Aphis oxyacanthae*, stellenweise ebenfalls sehr große an den deformierten *Prunus*blättern. Eine Folge solcher Zellenhypertrophien und -hyperplasien ist dann die enorme Dicke der betreffenden Gewebe, wie ich namentlich für *Aphis oxyac.* *Prunus* und an vielen Punkten auch für die *Prociphilus*galle auf *Fraxinus* gesehen habe. (Ich verweise schon auf die Figg. 6, 12a und 29), wofür ferner L. Couchet (10) [l. c.] für die *Tetraneura alba*-galle Belege fand, deren im übrigen unregelmäßige Wandverdickungen er stellenweise so mächtig sah, daß die innere Höhlung fast vollständig verschwunden war. Auch Abbé Pierre (75) [l. c.] hebt die abnorme Dicke des infizierten Stengels hervor, „causé surtout par l'hypertrophie du cylindre central, dont les diverses régions présentent des assises de cellules plus nombreuses“. Für die *Tetraneura*- und *Schizoneura*gallen auf *Ulmus* fand M. Molliard (71) [l. c.] „une abondante prolifération cellulaire et une absence de différenciation du parenchyme.“ Daß neben den Homopteren auch Hemipteren, und zwar Wanzen der Gattung *Copium*, Gallen mit Zellen von großen Dimensionen erzeugen können, wissen wir durch die Untersuchungen von C. Howard (36).

Kerne. Die relativ großen Kerne, die zur Charakteristik fast aller Gallen gehören, haben schon viele Forscher beschäftigt. Große Kerne mit deutlichen Nucleolen beschreibt C. Howard (36) für seine *Copium*-galle: *superbes noyaux ovoïdes hypertrophiés dont le diamètre peut atteindre 25 µ*; H. Karny und J. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (42) [l. c.] für die Galle der *Giganthothrips elegans* auf *Ficus glomerata*, speziell für die Kerne der Epidermiszellen der *Cordia suaveolens* unter dem Einfluß der Thysanopterengattungen *Androthrips* und *Aneurothrips*, für die Blattlausgallen (*Tetraneura ulmi*) speziell Molliard (71) [l. c.], deren jugendliche Zellen „gardent un noyau relativement volumineux“.

Kernhypertrophie in bedeutendem Grade habe ich bei meinen Rollgallen wiederholt konstatieren können. Die Kerne in den Riesenzellen der *Prunus*galle sind größer als normal, gestaltlich wechselnd; die Aphidengalle auf *Lonicera* zeigte vereinzelt in zwei nebeneinander liegenden Zellen von annähernd gleicher Größe große Differenzen in der Kerngröße, was allerdings, wie ich glaube, die bekannte Relation zwischen Kern und Plasma kaum zu berühren braucht.

Am interessantesten sind jedoch die Hypertrophien in der *Prociphilus*galle auf *Fraxinus*, deren Zellkerne durch die eigentümlichen zytologischen Veränderungen und durch die Konstanz der Kernhypertrophie im ganzen Bereiche der Gallbildung besonders auffallen. Fig. 4a zeigt drei kleine Zellkerne aus der normalen Gewebepartie, von linsenför-

<sup>5)</sup> Buscalioni, L. u. Muscatello, G., Contribuzione allo studio delle lesioni fogliari. (Malpighia. 1911. p. 27.)

<sup>36)</sup> Howard, C., Modifications histologiques produites par le *Copium* dans les fleurs des *Teucrium*. (Marcellia. 1906. p. 83.)



miger Gestalt, ausgerüstet mit kleineren und größeren Chromatinkörnchen, deren größte wir wohl als Nucleolen ansprechen dürfen, und außerdem je einen oder mehrere, verschieden große Proteinkristalle (vgl. auch Molisch (67) p. 329). Für die hypertrophierten Kerne, deren Volumen ein hohes Vielfaches der normalen ausmacht, gilt nun zunächst im allgemeinen eine größere Armut an färbbaren Substanzen (Chromatin), dessen Verteilung überdies sehr unregelmäßig wird. Ich fand Kerne mit annähernd gleichmäßiger Verteilung des Chromatins auf dem ganzen Nucleus [b, c], und andere, in denen die safranophilen Körnchen den Kern nur als spärliche Punktlinien durchzogen [g]; die Eiweißkristalle hypertrophieren meist in annähernd gleichem Tempo wie die Kerne selbst, manchmal sogar rascher und bestimmen nicht selten durch ihre Form und Gruppierung die Gestalt des Kernes mit [e]. In anderen Fällen bleiben sie an Größe bedeutend zurück, oder verschwinden schließlich ganz, und es ist nicht uninteressant, eine gewisse Parallele in der Chromatinarmut und im Verschwinden der Proteinkristalle konstatieren zu können, so daß solche Kerne außerordentlich hell und schwach gefärbt erscheinen (vgl. g und h mit b und c). Kerne, in denen mehrere Kristalle hintereinander liegen, gewinnen eine spindelförmige Gestalt. Meist legt sich um die Kristalle ein lichter, chromatinarmer bis -freier Hof von verschiedener Ausdehnung, und dem oben Gesagten gemäß gilt gleichzeitig: Je kleiner der Kristall, desto größer der Hof um denselben, offenbar als Folge von Chromatinarmut solcher Kerne überhaupt [h]. Spindelförmige Kerne sind nicht selten zu einem dünnen, feinen Ende ausgezogen [f]. l und m zeigen schließlich Kerne, deren Gestalt sich infolge der weiteren Degenerationserscheinungen nicht mehr weiter feststellen läßt. Die Kernmembran verschwindet in verschiedener Ausdehnung und die Kernsubstanz diffundiert dort gewissermaßen ins Protoplasma. Vorwiegend in den Epidermiszellen ließen sich weitere Veränderungen beobachten. Die im allgemeinen deutliche Kernmembran wird an manchen Kernen zu einer noch schärferen Kontur, und gleichzeitig damit treten tiefgreifende Strukturveränderungen auf. Es macht den Eindruck, als würden große Vakuolen entstehen, zwischen denen sich, ähnlich wie die Plasmastränge im Zellsaft, deutliche Fäden von sehr schwach färbbarer Substanz [Lignin?] ausspannen, sich in irgendeinem Punkte knotig vereinigen und außerdem längs der Kernmembran eine einheitliche, Chromatinkörnchen führende Zone bilden [i]; nur auf jenen Substanzbrücken finden sich im Kerninneren Chromatinkörner vor; einen Eiweißkristall habe ich nicht mehr erkennen können. Und noch weiter schreitet schließlich die Fig. k, die offenbar ein Stadium völliger Degeneration oder Desorganisa-

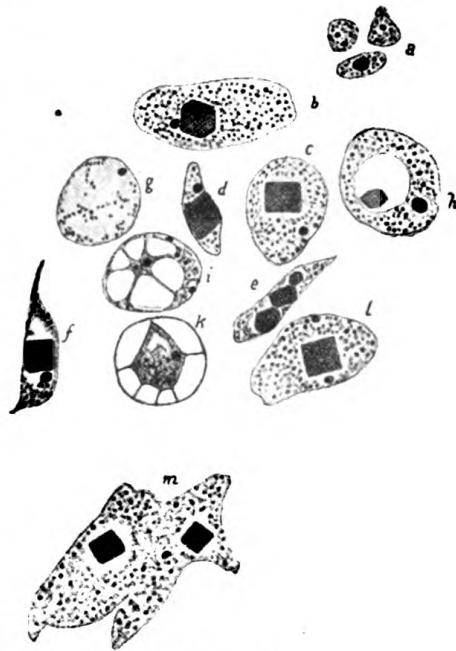


Fig. 4.

<sup>67)</sup> Molisch, H., Mikrochemie der Pflanzen. Jena 1913.

tion bedeutet. Mit den früher erwähnten Substanzbrücken lassen sich hier eventuell dann klare, schärfer ausgeprägte Linien vergleichen, die von einem dunkleren, aber keineswegs einheitlichen Kernzentrum ausgehen, gegen die Kernmembran zu ausstrahlen und dort enden. Die von diesen Linien durchzogene Rindenmasse ist sehr schwach farblos, und es bleibt unentschieden ob wir in den dunkleren Randstrahlen, wie mir wahrscheinlicher ist, Fäden einer konsistenteren Substanz oder aber Kanäle vor uns haben. Die Zentralmasse zeigt Granulierung, Chromatinkörnchen, einen Nucleolus und darüber einige hellere Flecken. Die ganze Zentralpartie erinnert in ihrer Gestalt flüchtig an einen großen Proteinkristall, hat damit aber offenbar nichts zu tun. Daß diese Kerne lebhaft Teilungen eingehen, beweist das Auftreten von 2 Kernen in einer Zelle. m deutet die letzten Erscheinungen gänzlichen Zerfalles an; wir sehen, daß die Kerne ihre Kontur verlieren, lappig werden und sich schließlich unter Zerfall auflösen, so daß sich Gestalt und Umfang nicht mehr nachweisen lassen. Als letzten Rest und als Erinnerung an ihr einstiges Vorhandensein finden sich in solchen Zellen lose, im Protoplasma liegende Proteinkristalle, die ihren Mutterboden verloren haben und die völlige Degeneration offenbar am längsten überdauern.

Eine sehr wertvolle Parallele bringt M. Molliard (68) für *Geranium dissectum* L., woraus wir entnehmen, daß verschiedene Parasiten in ihren Gallen analoge Hypertrophien zur Folge haben. Nach einer ausführlichen Beschreibung des Verhaltens der Nucleolen in färberischer Beziehung beschreibt er Nucleolen-ähnliche, an Sekundärkerne erinnernde Bildungen, die den Eindruck machen, „quils sont constitués par une vacuole périphérique autour de laquelle se serait disposée une partie de la substance chromatique du noyau.“ In einem weiteren Stadium der Umbildung konnte Molliard im Innern der Kernes große Vakuolen beobachten, ganz ähnlich denen im Protoplasma. Dieses Verhalten bildet eine wertvolle Parallele zu meinen Beobachtungen. Die Lappenbildungen finden in der Literatur besonders bei E. Küster (54) [l. c. p. 199 ff.] ausführliche Besprechungen, das Verhalten der Proteinkristalle in den *Fraxinus*-Kernen ein Gegenstück in den weiteren Degenerationserscheinungen, die Molliard beschreibt, und die sich schließlich kundgeben „par la disparition de la membrane nucléolaire, en temps que la substance chromatique est de moins en moins distincte et se colore d'une manière de plus en plus diffuse; la nucléole subsiste encore longtemps après la disparition complète de tous les éléments du noyau.“ Unter Hinweis auf die bezügliche Literatur erwähnt Küster (54), daß sich bei Pilzgallen die Kerne in leere Schläuche verwandeln, in deren Falten die Nucleolen liegen, ferner ist das Austreten von Chromatinkörnchen aus den Kernen der Älchengallen bekannt. Die vollständige Homologie in der Art der Kerndegeneration als Folge von Hypertrophie in Gallen, die sehr verschiedenen Parasiten ihre Entstehung verdanken, gestattet den Schluß, daß dieser Prozeß ein vom tierischen Reiz direkt ziemlich unabhängiges, ausschließlich pflanzenphysiologisches Problem ist.

**Zellwand.** Schon oben war erwähnt worden, daß die Zellwände der Aphidengallen durchwegs dünnwandig sind und gewöhnlich unverholzt bleiben, auch dann, wenn sie in der normalen Entwicklung Verholzung erfahren würden; letzteres habe ich stets beobachten können (auch bei der

<sup>68)</sup> Molliard, M. M., Hypertrophie pathologique des cellules végétales. (Rev. génér. de Botan. T. 9. 1897. p. 33.)

äußerlich derben Galle der *Aphis oxyacanthae* auf Apfelblättern). Daß auch Blattlausgallen verholzte Zellwände bekommen können, wissen wir durch E. Küster (50) für *Juglans*blätter, an deren Oberseite sich an den Mittelrippen Kolonien der *Lachnus juglandis* aufhalten, und eine Verholzung des über den Nerven liegenden Gewebes verursachen. Nach H. F. Keßler (45) [l. c.] ist die Verholzung der Gallen auf *Ulmus* eine bedingte, insofern, als dann, wenn die Tiere die jungen Sprosse zu einer Zeit affizieren, wo noch keine Blätter getrieben worden sind, die Galle späterhin holzig wird. Eine genaue Untersuchung dieser Erscheinung steht noch aus. Jedenfalls möchte ich für die Blattlausgallen im allgemeinen sagen, daß abnorme Verholzungen nicht nur selten sind, sondern daß es sogar zu einer Unterdrückung normaler Verholzungsprozesse kommt, wie der Mangel mechanischer Zellen, eine erheblich schwächere Ausbildung der wasserleitenden Elemente in den Gefäßbündeln und ein nachweislich geringer Verholzungsgrad der letzteren beweisen. In offenbarem Gegensatz zum Verhalten der Aphiden stehen die Cocciden, welche in ihren Gallbildungen C. Howard (38) [l. c.] für die Gattung *Asterolecanium* untersucht hat. Ihm zufolge geht die Verholzung so weit, daß sie „englobe un ou plusieurs petits faisceaux latéraux et envahit, en dernier lieu les tissus situés au-dessus du faisceau médian“. Abnorme Zellulose-Wandverdickungen, wie sie in der normalen Entwicklung der betreffenden Gewebe fehlen, fanden sich in der *Prunus*galle von sehr unregelmäßiger Entwicklung und Ausdehnung, wobei die betreffenden Zellen in ihrer Größe gleichzeitig hinter den normalen zurückgeblieben waren (vgl. Fig. 7).

In diesem Zusammenhange erwähne ich eigentümliche Bildungen, die in der *Prunus*galle nicht selten zu beobachten waren. Es macht den Eindruck, als lägen lokale „Wucherungen“ der Zellwände vor, in stärkster Entwicklung meist dort, wo mehr als zwei Zellen zusammenstoßen. Im Zentrum derselben finden sich gelbliche, von Safranin nicht gefärbte Partien (möglicherweise Reste von Stichkanälen, vielleicht verändertes Sekret) und um dieselben herum eine verschieden dicke, stets deutlich geschichtete Hülle, die sich, im Gegensatz zu den kaum gefärbten Zellulosezellwänden, schwach rosa färbte, im Farbton den Holzgefäßen der Gefäßbündel ähnlich). Das Zentrum erscheint homogen oder zerklüftet. Der Gedanke an eingekapseltes Speichelsekret von Stichen her, die sehr früh in der Entwicklung der Pflanze eingeführt worden waren, und nunmehr weitgehende Veränderungen erfahren hatten, liegt nahe; der schließliche Verlust der Safranophilie seitens des Speichels — die vielleicht nur eine Folge von Gerbstoffablagerung ist (112) [l. c. p. 275] — ist an sich nichts Sonderbares, denn für *Artemisia* und *Evnymus* sind bereits ähnliche Erscheinungen bekannt. Die fragliche Umhüllungssubstanz deutet auf Lignin, wie solches ähnlich C. Hartwich (31)<sup>1</sup>) für die *Infectoriagalle* beschrieben hatte. Auch seinen Beobachtungen zufolge entstanden die genannten Bildungen größtenteils an Punkten, wo mehrere Zellen zusammenstoßen, und zwar mit der Wachstumsrichtung nach dem Inneren mehrerer in Mitleidenschaft gezogener Zellen zu gleichzeitig. Eine Korrelation zwischen Gerbstoffgehalt und dem Auftreten solcher Ligninkörper, wie sie Hartwich ermittelt hatte, habe ich nicht beobachtet.

<sup>50</sup>) Küster, E., Pathologische Pflanzenanatomie. Jena 1903.

<sup>31</sup>) Hartwich, C., Über Gerbstoffkugeln und Ligninkörper in der Nahrungsschichte der *Infectoriagalle*. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 3. 1885. p. 146.)

**Gerbstoff.** Auf das Auftreten von Gerbstoff in Aphidengallen haben bereits Küstenmacher (49) [l. c.], speziell auch für die *Aphis oxyacanthae* Galle auf *Crataegus oxyacantha* und in neuerer Zeit Molliard (71) [l. c.] und Roncali (81) [l. c.] für verschiedene Blattlausgallen hingewiesen. Gerbstoff habe ich, soweit ich meine Gallen daraufhin untersuchte, stets reichlich gefunden. Für die *Aphis oxyacanthae*-Galle auf *Pirus malus* ergab sich eine Differenzierung insofern, als die die Gefäßbündel ausscheidenden Zellen körnigen Gerbstoff führten, während er in den übrigen Zellen, besonders aber in der Hypodermis der Blattoberseite, in Form von Gerbstoffkugeln zu finden war. Über die Rolle des Gerbstoffes zum Parasiten vergleiche mein bezügliches Kapitel der Abhandlung über das Saugphänomen (112) [l. c. p. 317 ff.].

**Chloroplaste.** Schon L. Courchet (10) [l. c.] ist der Chlorophyllmangel in den Aphidengallen, namentlich des *Pemphigus affinis* auf *Populus*, aufgefallen. Der Chlorophyllgehalt wird schließlich „moins abondante et plus ou moins altérée“. Die Farbe geht allmählich von grün in gelblich grün und endlich in gelb über. Küster (54) [l. c.] fügt seinen Ausführungen über den Chlorophyllmangel an histioiden Gallen die Bemerkung bei, daß an Ulmenblättern durch *Tetraneura ulmi* Gallenanfänge entstehen, deren Zellen ihren Chlorophyllgehalt ganz oder teilweise verlieren und blaß bleiben, auch dann, wenn die Gallentiere die unfertige Galle schon längst verlassen haben. Für die *Aphis-oxyacanthae*-Galle, auf deren Chlorophyllmangel schon Küstenmacher hingewiesen hatte, hat sich feststellen lassen, daß die Reduktion des Chlorophylls mit der Hypertrophie der es führenden Gewebe Hand in Hand geht: Wird eine bestimmte Zellage des Palisadengewebes von Hypertrophie betroffen, so verschwindet fast unvermittelt ein großer Teil der Chlorophyllkörner, während andere (tiefere) Schichten derselben Blattzone, die noch nicht hypertrophierten, das Chlorophyll in der ursprünglichen Menge annähernd beibehielten. In Gallen, deren Assimilationsgewebe bis zur Unkenntlichkeit deformiert wird, wie z. B. der *Fraxinus* Galle, tritt eine solche Rückbildung des Chlorophyllapparates ein, daß die ursprüngliche Funktion jener Zellen nicht mehr zu erkennen ist. In Gemäßheit dessen, daß Chlorophyllgehalt und pathologische Zellenhypertrophie bzw. -hyperplasie verkehrt proportioniert sind, war in den Gallen der *Aphis pomi* und des *Pemphigus xylostei* der größte Chlorophyllgehalt zu konstatieren. Die Aphidengalle auf *Lonicera* hatte bereits einen viel schwächeren, noch geringer war er in der *Prunus* Galle usw. Für die *Prociphilus xylostei* Galle möchte ich nur hervorheben, daß der stark in Mitleidenschaft gezogene Blattrand, der zugleich einem früheren Entwicklungsstadium entsprach, im Gegensatz zur übrigen Blattpartie außerordentlich chlorophyllarm war. Über die vermutliche Ursache des Chlorophyllmangels verweise ich auf M. Molliard (71), dessen Auffassung keineswegs unwidersprochen blieb; im letzten Kapitel kommen wir noch darauf zurück. Mit Recht weist Küster (54) [l. c. p. 202] auf die Eigentümlichkeit hin, daß die durch ähnliche Parasiten erzeugten organoiden Gallen statt Verminderung eine Chlorophyllvermehrung erfahren, wofür als Beispiel die von Peyritsch (74) [l. c.] beschriebenen Weidenvergrünungen auf *Arabis* dienen mögen. Auch L. Buscoliani und Muscatello (5) [l. c. p. 40] nehmen auf eine derartige „persistenza etalora anche l'aumento della clorofilla“ Bezug.

**Oxalatkristalle.** Ein einheitliches Bild für das Verhalten von Kristalldrüsen, die dem normalen Blatte eigentümlich sind, läßt sich für die

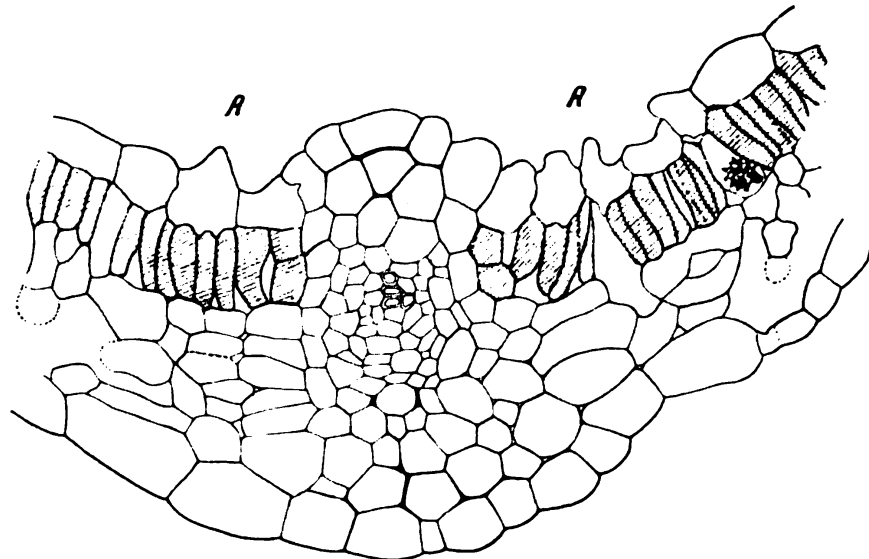


Fig. 5 a.

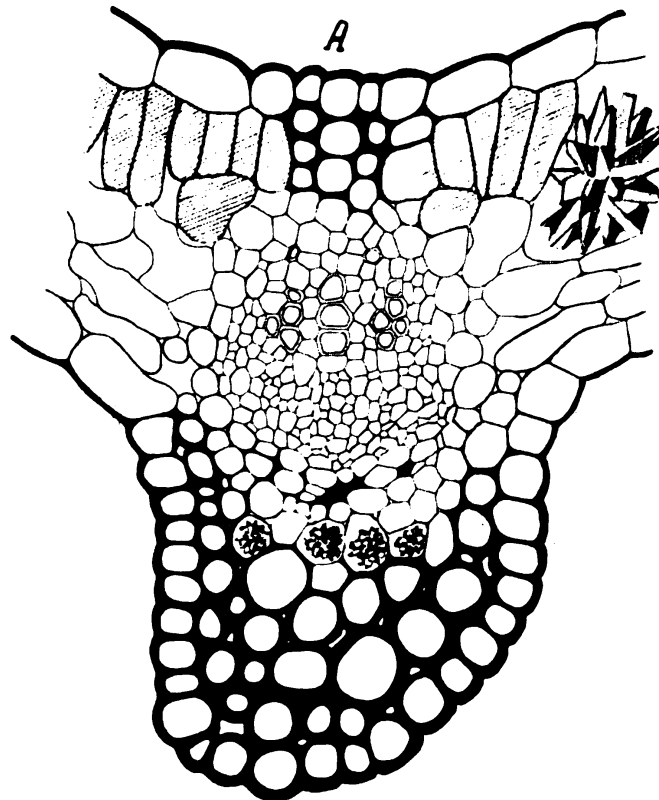


Fig. 5 b.

Gallen nicht gewinnen. So viel kann wohl gesagt werden, daß ihre Ausbildung hinter dem normalen Verhalten wesentlich zurückbleibt. So finden sich beispielsweise in der *Prociphilus xylostei* galle die großen Oxalat-

drusen, die in den normalen Blättern bekannt sind (Fig. 5b) und deren Behälter in das Niveau der Palisadenzellen eingeschaltet sind, nur sehr schwach und klein entwickelt (Fig. 5a); die Zellen, denen sie angehören, sind kaum größer als die des Palisadengewebes. Die im collenchymatisch verdickten, zentralen Nervenparenchym eingeschalteten, ähnlichen, kleinen Drusen scheinen der Galle überhaupt zu fehlen, wenigstens habe ich keine bemerken können. Ähnliche Kristalle sind im Mittelnerv des gesunden *Prunus* blattes sehr häufig; in einer der von mir untersuchten Gallen haben sie jedoch vollständig gefehlt, in einer zweiten wiederum sich ziemlich zahlreich finden lassen. Mit meinen negativen Befunden stimmen überein die Angaben von

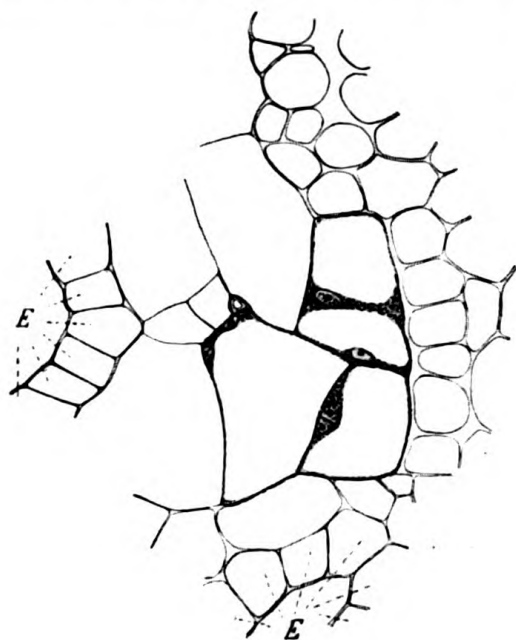


Fig. 5 c.

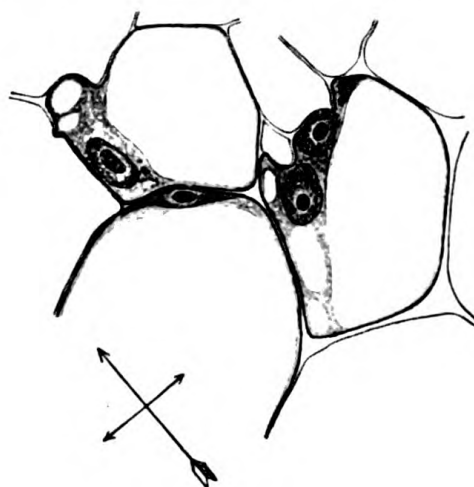


Fig. 5 e.



Fig. 5 d.

C. Houard (38) [l. c.] für *Asterolecanium* hinsichtlich der Oxalatkristalle, von Molliard (68) [l. c.] für die Milbengallen auf *Galium* bezüglich der Raphidenbündel. Es ist daher keineswegs gestattet, zu sagen: in dieser Galle fehlen solche Kristalle, in jener sind sie vorhanden, sondern sie fehlen oder existieren, unabhängig von der Natur des Gallenerzeugers und des Wirtes, offenbar unter gewissen Bedingungen, von denen E. Küster (50) [l. c. p. 40] herabgesetzte Transpiration als Ursache für deren Verminderung angibt. Jedenfalls ist es auch nicht gleichgültig, in welchem Entwicklungsstadium die Pflanze im Zeitpunkte des Befalles war, und eine wie tiefe Änderung die Zellenphysiologie durch den Einfluß des Gallenreizes erfahren hat.

**Riesenzellen.** Vielkernige Riesenzellen sind in Gallen verschiedener Provenienz gefunden worden; das Hauptkontingent stellen jedenfalls mit ihrer Fülle interessanter Details die Älchengallen, worüber bei Küster (50) [l. c. p. 127] das Wesentliche zusammengetragen ist. Das einzige bisher bekanntgewordene Beispiel für Aphidengallen sind die Blutlauskrebse, für welche Prillieux (77) schon vor langer Zeit Riesenzellen beschrieben

<sup>77)</sup> Prillieux, Étude des altérations produites dans le bois du pommier par les piqures du puceron lanigère. (Ann. Inst. Agron. 1877—78. p. 39; zitiert nach E. Küster (50), [l. c.] )



hat. Obwohl ich bei meinen Untersuchungen wiederholt sehr große Zellen gesehen habe, wie namentlich bei der *Fraxin*sgalle, die vereinzelt, wenn auch selten, 2-kernig waren (vgl. das oben über die Kerne Gesagte!), möchte ich diese Zellen doch noch nicht zu den eigentlichen Riesenzellen stellen, da Zweikernigkeit selten, Mehrkernigkeit von mir überhaupt nie beobachtet werden konnte. Hingegen bietet die *Prunus*-Galle klassische Beispiele für Riesenzellen. Im Rindengewebe des Mittelnervs der Blattunterseite jener Galle, welche um den Mittelnerv umgelegte Spreitenhälften hatte, zeigen sich außerordentlich lebhaft Zellteilungen und -wucherungen, und dort sind, wie Fig. 5c zeigt, Nester von Riesenzellen eingeschaltet. Zumeist finden sie sich dort, unmittelbar unter den Epidermiszellen in den tiefsten Einsenkungen zwischen den leistenartigen Wucherungen des übrigen Ventralgewebes (vgl. auch Fig. 13) eingeschaltet, gegen das umliegende, namentlich tiefer liegende, kleinzellige Gewebe scharf abgegrenzt. Die Zellen sind außerordentlich dünnwandig, relativ arm an Protoplasma und enthalten 2—3 Zellkerne (Fig. 5d, e). Letztere haben stets scharfe Konturen, einen großen, intensiv färbbaren Nucleolus, der von einem etwas helleren, chromatinärmeren Hof umgeben ist. Die völlige Absonderung des tiefer liegenden Gewebes gegen die Riesenzellgruppe und seine verhältnismäßig dicken Zellwände, namentlich in der Berührungszone mit den Riesenzellen, gibt jenem förmlich epithelialen Charakter, und es ist nicht ausgeschlossen, daß nach Zerreißen der Riesenzellen, wie solches sich beobachten läßt, sie funktionell eine Epidermis vertreten und so das tiefer liegende Gewebe schützen. Wir kommen darauf im nächsten Hauptkapitel noch zurück. Über die Ursachen des lokalen Auftretens solcher Riesenzellen sind wir nur auf Vermutungen angewiesen. Ähnliche Zellen werden wir bei *Prunus* später noch an den kleineren Seitennerven vorfinden, doch sind sie dort als Riesenzellen weniger scharf gegen das übrige Gewebe abgeschieden und nicht so charakteristisch als am Mittelnerv. Es liegt nahe, die Gedanken von C. Wehmer (106)<sup>1)</sup> und G. E. Ritter (80)<sup>2)</sup> über die Entstehung der Riesenzellen an *Aspergillus fumigatus*, *Mucor spinosus*, *Citromyces* usw. auch für die Entstehung ähnlicher Bildungen bei den Aphidengallen und vielleicht auch anderen *Zoococcidien* heranzuziehen. Darnach wäre es hauptsächlich die freie Säure, auf deren Wirksamkeit die Bildung von Riesenzellen zurückzuführen ist. Wenn Ritter allerdings p. 398 sagt: „... Jedenfalls läßt sich jetzt so viel sagen, daß die Pilzzellen der formativen Wirkung der Säuren im allgemeinen leichter zugänglich sind als andere Pflanzenzellen“, so bedarf das für die höheren Pflanzen, namentlich auch für die Gallen, wohl erst der genaueren Untersuchungen. Die von Molliard (71) hervorgehobene Steigerung im Gehalte an freier Säure in Gallen würde manches vielleicht verständlich machen. Nach E. Küster (52) [l. c.] entstehen Riesenzellen, außer bei Gallen, auch dann, wenn ungeeignete Nährlösungen allzuhohe Temperatur und dgl. vorliegen.

Warum gerade so lokal Riesenzellen auftreten, das wissen wir nicht, da chemisch-physiologische Untersuchungen auf so kleinen Arealen kaum

<sup>106)</sup> Wehmer, C., Übergang älterer Vegetationen von *Aspergillus fumigatus* in „Riesenzellen“ unter Wirkung angehäufter Säure. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 31. 1913. p. 257.)

<sup>80)</sup> Ritter, G. E., Die giftige und formative Wirkung der Säuren auf die Mucraceen und ihre Beziehung zur Mucorhefebildung. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 52. 1913. p. 351.)

gut denkbar sind und andererseits die Beziehung solcher Zellgruppen zum Verlaufe bestimmter Blattlausstiche aufdecken zu wollen, ebenfalls wenig Aussicht auf Erfolg haben dürfte. Ich halte es vielmehr für empfehlenswert, sich nicht auf solche Detailfragen zu verbeißen, warum gerade in diesem Zellenkomplex Riesenzellen entstanden sind, sondern das Thema allgemeiner zu fassen und sich nach den Ursachen der Hypertrophie an gewissen Punkten und Zonen des Blattgewebes überhaupt zu fragen, mit anderen Worten, das entwicklungsmechanische Problem der pathologischen Blattrollung zu studieren, ein Weg, der, wie wir im 2. Hauptkapitel sehen werden, viel eher Resultate liefert und interessante Tatsachen ans Licht fördert. Sind damit gewiß auch noch nicht die chemisch-physiologischen Ursachen aufgedeckt, so ist doch eine Erklärung gegeben, die das Auftreten lokalisierter Hypertrophien verständlich macht und namentlich zeigt, daß vieles, was wir bisher dem direkten Einflusse der Parasiten zuzuschreiben geneigt waren, in Wahrheit Leistung der Pflanze ist.

#### G e w e b e.

Der verschiedene Grad von Vergallung des Blattgewebes durch Hypertrophie und Hyperplasie bringt es mit sich, daß die anatomischen Bilder in den 6 untersuchten Gallen außerordentlich verschieden sind. Wenngleich die Tendenz der Veränderungen in allen Gallen zunächst auf eine Vereinfachung der Gewebedifferenzierung, sei es durch nachträgliche Verwischung vorhanden gewesener Spezialisierung, sei es durch Unterdrückung einer solchen bereits im meristematischen Zustande und Umschaffung des ganzen Gewebekomplexes zu physiologisch nahezu gleichwertigen Elementen — in dem Sinne wenigstens, als die normalen Funktionen unterdrückt werden, was nicht ausschließt, daß neue Funktionen an deren Stelle treten, im Sinne deren ebenfalls eine Differenzierung stattfinden kann — hinausläuft, stößt eine einheitliche Darstellung der Verhältnisse doch auf ziemliche Schwierigkeiten, weil eben nichts mehr Einheitliches vorliegt und wir in vielen Fällen in den einzelnen Abschnitten die betreffenden Gallen abgesondert werden besprechen müssen.

Der mir für dieses Kapitel vorgezeichnete Weg ist die Klarlegung des abweichenden anatomischen Baues, verglichen einmal mit den jeweiligen gesunden Organen und dann mit den analogen Verhältnissen an den anderen Gallen, abweichend vom normalen, physiologisch bereits differenzierten Blatte. Die Blattphysiologie wird nur so weit Erwähnung finden, als eine zu erwartende Differenzierung fehlt, während alles, was mit neuen physiologischen Fragen zusammenhängt, also der ganze umfangreiche Fragenkomplex der Blattrollung, dem nächsten Hauptkapitel vorbehalten bleiben soll, so daß eine scharfe Scheidung von Destruktion und Neukonstruktion möglich wird. Mit Rücksicht darauf, daß bei der wechselvollen Umgrenzung der Vergallungsbezirke und der variablen Intensität der Gallbildung an einer und derselben Pflanze ein einheitlicher Vergleich bestimmter Mesophyllelemente schwer durchführbar wird, werden alle die mannigfachen Veränderungen unter „Mesophyll im allgemeinen“ besprochen, welches Kapitel wir vorwegnehmen, und dann die einzelnen Gewebesysteme, soweit sie nicht schon Berücksichtigung gefunden, abgehandelt. Gewisse Gewebekomplexe, wie z. B. das Parenchym, das in den Nerven die Gefäßbündel, besonders stark an der Unterseite begleitet, und das im normalen Blatte hauptsächlich eine mechanische Funktion im Sinne der Biegsamkeit



der Blattspreite leistet, werden hier nur gestreift, da die Veränderungen an denselben bereits unmittelbar sekundärphysiologische Bedeutung haben und erst im 2. Hauptkapitel besprochen werden können.

**Mesophyll im allgemeinen.** Den Weg, den die Veränderungen an den Blättern durch die Saugtätigkeit der Blattläuse nehmen können, hat bereits A. B. Frank (23) [l. c.] angegeben: „Die Beschaffenheit der Gewebe des Blattes bleibt bei diesen Krümmungen entweder normal, oder es tritt zwar keine Verdickung der Blattfläche, aber eine andere Beschaffenheit der Zellen ein, in dem namentlich kein Palisadengewebe an der Oberseite sich differenziert, sondern das Mesophyll ein gleichförmiges, chlorophyllarmes, aus polyedrischen Zellen bestehendes Gewebe darstellt, oder endlich, das Mesophyll erleidet eine wahre Hypertrophie, seine Zellen vermehren sich und vergrößern sich, wodurch eine Zunahme der Dicke des Blattes bewirkt wird und somit schon ein Übergang zur Gallbildung vorliegt.“ Für den letzten Fall zieht Frank die Galle der *Aphis oxyacanthae* auf *Crataegus oxyacantha* heran, deren Mesophyllzellen, in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Küstenmacher (49) [l. c.] und meinen Untersuchungen, sich zu großen, isodiametrischen, mit rotem Zellsaft gefüllten Zellen erweitern, während das Interzellularensystem mehr oder weniger verschwindet. Ähnliche Feststellungen für *Pemphigus*-gallen auf *Pistacia* verdanken wir M. Schneider-Orelli (91) [l. c.], Mangel der normalen physiologischen Differenzierung, für die *Pemphigus pallidus* und *P. affinis*-Galle der Schwarzpappel L. Courchet (10) [l. c.]: während die erste Galle, les assises en palisade et le tissu cellulaire lacunaire ont fait place à un tissu homogène composé de cellules irrégulièrement polyédriques, ne laissant entre elles aucun méat, sind in der zweiten Galle „le parenchyme en palisade et le parenchyme lacunaire à peu près intacts“; es hat sich nur eine schwache Volumsvergrößerung und eine Abrundung der Zellkonturen feststellen lassen. Eine analoge Vernichtung der normalen Differenzierung zeigen die Gallen der *Tetraneura ulmi* [L. Courchet (10) und M. Molliard (71)]. Molliard erwähnt speziell, daß eine lebhafte Zellteilung des noch undifferenzierten Gewebes den ersten Anstoß zur Gallbildung gibt. Die *Schizoneuralanuginosa*-galle erinnert anatomisch an die des *Pemphigus pallidus*. Daß auch Schildläuse, allerdings am Stengel, eine Gewebedestruction und Schaffung homogenen Gewebes herbeiführen können, wissen wir durch Abbé Pierre (75) [l. c.].

In die Kategorie der ersten, von Frank angeführten Gallen gehört meine schon unter den Hypoplasien erledigte *A. pomi*-Galle, ferner auch die Galle des *Prociphilus xylostei*, deren Mesophyll in anatomischer Hinsicht, mit Ausnahme der zarteren Entwicklung, vor allem der Palisadenzellen, im Vergleiche zum normalen Blatte mit letzteren im wesentlichen übereinstimmt (vgl. die Fig. 5a, 5b, 22, 23). Nur der Blatt- rand zeigt mehr meristematischen Charakter. In die zweite Kategorie Franks möchte ich die Aphidengalle auf *Lonicera* stellen, deren Mesophyll bei ungleicher Differenzierung seiner Elemente hauptsächlich eine Entwicklungshemmung der Palisadenzellen aufweist, von außerordentlich wechselnder Gestalt, so daß nicht selten statt der Höhen- die Breitendimension vorwiegt, während das übrige Gewebe nur in bescheidener Entwicklung als Schwammparenchym angesprochen werden kann. Eine Zweischichtig-

keit der Palisaden, wie sie dem normalen Blatte häufig zukommt, fehlt den Gallenblättern vollkommen.

Zu den oben gemachten Bemerkungen zu der *Aphis oxycantha*-galle möchte ich nachtragen, daß in den einzelnen Blattzonen die Veränderungen so mannigfaltig sind, daß eine einheitliche Beurteilung kaum möglich ist. Wir finden alle Übergangsstadien in einer und derselben Galle vom normalen Blattbau bis zur vollständigen Vernichtung des ursprünglichen Bauplanes. In der Nähe des Mittelnervs habe ich noch den größten Grad von Ursprünglichkeit finden können, links und rechts von ihm waren die Umbildungen keineswegs gleichartig; während auf der einen Seite die Hypertrophie allmählich von der Oberseite gegen die Unterseite vorgriff, so daß zuerst die erste Schicht des Palisadengewebes davon betroffen war, schien auf der anderen Seite die Umbildung viel rascher vorzuschreiten, so daß schließlich das schon von Frank beobachtete, einheitliche, aus isodiametrischen Zellen zusammengesetzte Gallengewebe resultierte. Auch die hauptsächlich Höhenstreckung der den ursprünglichen Palisadenzellen entsprechenden Elemente

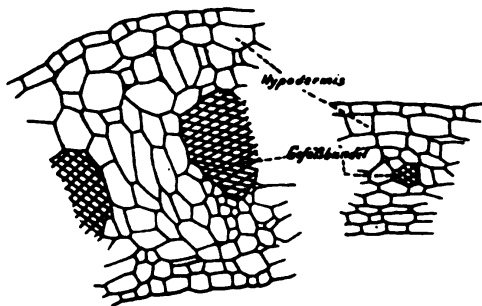


Fig. 6.

bleibt nicht erhalten; im Querschnitte sind sie nicht selten doppelt so breit als hoch und bilden zusammen mit den übrigen Komponenten an manchen Stellen ein Gewebe, das lebhaft an einen Längsschnitt durch gleichförmiges, einheitliches Parenchym erinnert. Mit diesem unregelmäßigen Bau geht eine außerordentlich verschiedene Dicke Hand in Hand, so daß die Spreite an manchen Stellen doppelt so dick ist, als an anderen. (Fig. 6).

Der hohe Grad der anatomischen Veränderungen des *Fraxinus*-blattes durch die *Prociphilus*-infektion kann hier nur gestreift werden, weil fast alle Symptome bereits sekundär-physiologische Bedeutung besitzen und wir sie kaum erwähnen können, ohne bereits die neue Funktion zu erörtern und dem nächsten Hauptkapitel vorzugreifen. Auffallend ist jedenfalls die große Verschiedenheit der Gewebspartien, speziell die bedeutende Größe der den Palisadenzellen ontogenetisch entsprechenden Hypodermalzellen der Blattoberseite. Der Übergang des normalen Gewebes in das der Galle ist ein allmählicher und läuft im wesentlichen auf die Verwischung der morphologischen Unterschiede der einzelnen Zelltypen, unter gleichzeitiger Vernichtung der Interzellularräume, hinaus.

Eingehend muß uns hier die *Prunus*-galle beschäftigen. War es schon bei den anderen Gallen schwer, eine einheitliche Schilderung des Gallenbaues zu geben, so gilt das in erhöhtem Maße hier. Im Verlaufe des Querschnittes bei Verfolgung seiner Konstitution vom Mittelnerv bis zum Blattrande einerseits, beim Vergleiche des anatomischen Baues beider von mir untersuchten verschiedenen Blattrollen bzw. -falten andererseits wechseln die Bilder fortwährend: stark verändertes, durch mächtige Hyperplasien verunstaltetes Gewebe reiht sich an meristematische Zonen, ohne daß wir indessen sagen könnten, die letzteren wären etwa auf den Blattrand beschränkt. Es kommt stellenweise zu Auftreibungen und kropfartigen Vorwölbungen bestimmter Partien, die dann wulstartig ins Gallenlumen vorragen. Außerordentlich wechselvolle Dickenverhältnisse in den einzelnen infizierten Spreitenteilen charakterisieren die Galle.

Ich will hier deskriptiv einige Bilder herausgreifen, die das Gesagte illustrieren sollen. Vergleichen wir zunächst die beiden Figuren 7 u. 8. Fig. 7 bezieht sich auf eine Partie des Querschnittes, wie sie zumeist in größerer Nähe des Mittelnerven auftritt; Fig. 8 veranschaulicht die Verhältnisse in größerer Nähe des Blattrandes, obwohl, wie gesagt, diese Lokalisation keineswegs durchgreifend ist. In Fig. 7 ist die Epidermis und ein großer Teil des anschließenden Mesophylls relativ stark kollenchymatisch verdickt, wobei sich eine Bevorzugung gewisser Wände nicht erkennen läßt. Im wesentlichen aber sehen wir hier nur ein Gewirr von Zellen, deren Wändeverlauf an vielen Punkten deutlich erkennen läßt, daß hier lebhaft Zellteilungen im Gange sind, die die ursprünglichen Palisadenzellen in zahlreiche Tochterzellen

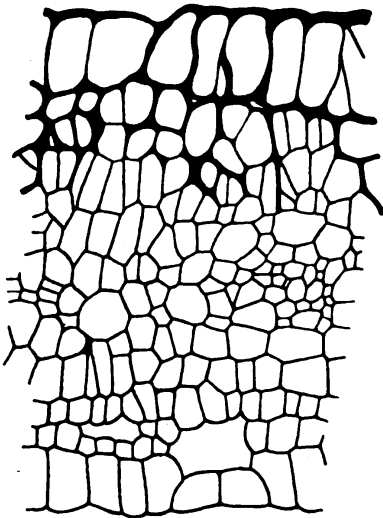


Fig. 7.

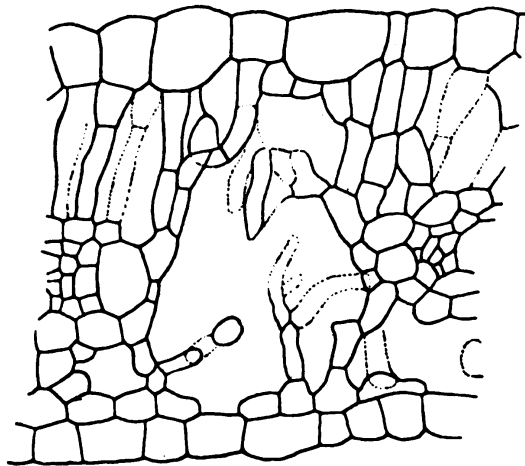


Fig. 8.

zerlegt haben. Im übrigen ist eine Unterscheidung von Palisadenzellen und Schwammparenchym nirgends mehr erkennbar; auch das letztere hat zahlreiche nachträgliche Zellteilungen erfahren, abnorme Wandverdickungen blieben jedoch völlig aus, die Interzellularräume sind sehr spärlich entwickelt.

Ein wesentlich anderes Bild zeigt Fig. 8. Das Interzellularsystem, das im normalen Blatte der Hauptsache nach auf die Blattunterseite beschränkt bleibt, erfaßt hier das ganze Blatt von der Ober- bis zur Unterseite in seiner ganzen Breite. Die Palisadenzellen, die als solche nur zur Not erkennbar sind, werden durch breite Luftwege auseinandergedrängt, so daß die Epidermiszellen der Blattoberseite selbst auf größere Strecken direkt auf Lufträume stoßen. Die veränderten Palisadenzellen unterscheiden sich von den betreffenden Elementen der Blattunterseite durch ihre Größe und hauptsächlich durch ihre Orientierung senkrecht zur Blattfläche. Dieses Bauprinzip wird gegen den Blattrand zu stellenweise so weit getrieben, daß das ganze Mesophyllgewebe fehlt, und sich ein einziger, mehrere Zelllagen breiter und tiefer Luftraum von der oberen bis zur unteren Epidermis erstreckt. Das Dünnerwerden der Blattspreite ist im allgemeinen nicht durch die Nähe des Blattrandes bedingt, sondern häufig folgen solchen Stellen marginopetal wieder dickere Blattpartien.

Ohne hier schon Umfang und Zweck der lebhaften Hyperplasien und Hypertrophien der parenchymatischen Elemente der Blattunterseite im Be-

reiche größerer Nerven erklären zu können, will ich hier hauptsächlich die anormalen Zellteilungen besprechen, die dortselbst die subepidermalen Elemente erfahren (Fig. 9 a). In der Hypodermis [ein Ausdruck, den ich ausschließlich topographisch verwenden will, und dem längeren „Subepidermis“ vorziehe], deren Zellen hinsichtlich der Höhe ungefähr mit den Epidermiszellen übereinstimmen und deren Zellumgrenzung durch das Auftreten von Interzellularräumen deutlich zu verfolgen ist, sowohl, als auch in einigen tieferen Zellagen sind neue Zellteilungen aufgetreten, die, besonders hypodermal, außerordentlich regelmäßig verlaufen; es wechseln stets perikline und antikline Wände ab, so daß eine solche Zelle im Querschnitt schließlich in 4 Tochterzellen zerfällt (im Raume offenbar mehr, mindestens wohl 8). Die ersten Teilungswände sind periklin oder antiklin, die folgenden stets den ersten entgegengesetzt, so daß die Teilungen eine regelmäßig Felderung

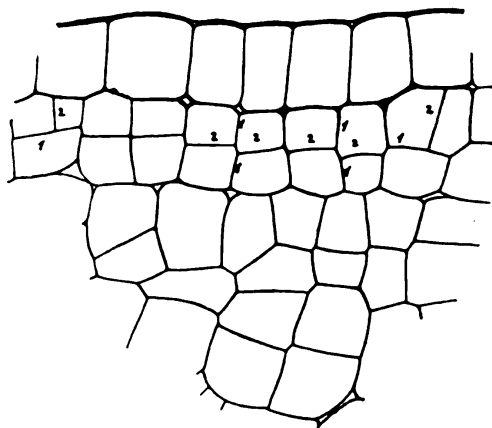


Fig. 9 a.

ergeben. Ist die erste Wand periklin, so kommt es häufig bloß zu einer weiteren Teilung der äußeren der beiden Tochterzellen, während die innere ungeteilt bleibt; bei antiklinen Erstlingswänden habe ich stets beide Tochterzellen weitergeteilt gesehen. In den tieferen Zonen ist die Regelmäßigkeit schon viel geringer, die Wände verlaufen schief und lassen kein deutliches System erkennen, in Konsequenz der Tatsache, daß die Anordnung der subepidermalen Zellen von vorneherein viel regelmäßiger ist als in den tieferen Zonen. Daß diese Teilungen abnorm sind, daß sie nicht in der Ontogenie

der normalen Blätter begründet erscheinen, dafür spricht vor allem die durch die Interzellularen unverkennbar deutliche Umgrenzung der in der normalen Entwicklung bereits zum Stillstand gekommenen Mutterzellen, die nunmehr durch den Gallenreiz neuerdings meristematischen Charakter angenommen haben.

**Epidermis.** Für die Epidermiszellen gilt im allgemeinen, daß als hauptsächlichste und auffälligste Veränderung an ihr, von der häufig eintretenden bedeutenden Hypertrophie zunächst abgesehen, die Wände auffallend dünn bleiben. Diese, schon von Küster (54) [l. c. p. 207]\* für verschiedene Gallen verallgemeinerte, Auffassung gilt, nach meinen Untersuchungen, ebensowohl für die einfachsten als auch für die abgeleiteten Gallen und kommt namentlich in der Gefäßbündelregion, wo ja doch die Epidermiszellen an der mechanischen Verstärkung durch Verdickung der Radial- und Innenwände und Ausbildung von Cuticularschichten in den

\*) Daß die von Küster (54) [l. c. p. 208] für eine *Perrisia* galle erwähnte Unregelmäßigkeit im Niveau der Epidermiszellen sich auch an normalem Stengelgewebe findet, habe ich vor einigen Jahren für *Paris quadrifolia* gefunden (109). [Tafel V, Fig. 49.]

<sup>109)</sup> Zweigelt, F., Vergleichende Anatomie der *Asparagoideae*, *Ophiopogonoideae*, *Aletroideae*, *Luzuriagoideae* und *Smilacoidae* nebst Bemerkungen über die Beziehungen zwischen *Ophiopogonoideae* und *Dracaenoideae*. (Denkschr. d. mathem. naturw. Kl. d. Kaiserl. Akad. d. Wiss. Wien. Bd. 88. 1912. p. 398 ff.)

Außenwänden teilnehmen (vgl. Fig. 3), deutlich zum Ausdruck. Die Ausbildung der Cuticula bleibt jedoch in den Gallen erhalten, wie Küster für die *Adelges*-Cecidien, ich für andere Aphidengallen, L. Courchet (10) [l. c.] für die *Tetraneura ulmigalle*, und zwar für die Epidermiszellen der Außenwand, hatten nachweisen können, während die innere Epidermis in Haare übergeht und, nach Molliard (71) [l. c.], schließlich besondere Eigentümlichkeiten zeigt, indem sich dort Zellen bilden „qui se sont séparées les unes par les autres, formant des flots irréguliers, et rendent ainsi cette face rugueuse.“ Für die *Pemphigus affinis*galle ist bekannt, daß die Epidermiszellen des Galleninneren (Blattoberseite) aus größeren Elementen als normal zusammengesetzt, der Cuticula entbehren (Courchet).

Über das Dünnwandigbleiben der Epidermiszellen kommen viele Gallen nicht hinaus. (*Aphis pomi*, *Prociphilus xylostei*, auch die Aphidengalle auf *Lonicera*). Sekundäre Veränderungen ergeben sich nun entweder durch Hypertrophie oder Hyperplasie oder beides gleichzeitig. Bei den beiden zuletzt genannten Gallen tritt bereits schwache Hypertrophie auf, in ausgedehntem Maße aber für die *Aphis oxycanthae*- und *Fraxinus*galle, und zwar in beiden Fällen für die Epidermis der Blattoberseite.

Nach A. B. Frank (23) [l. c.] dehnt sich die Epidermis der konkaven Unterseite der *Aphis oxycanthae*-Galle so stark, daß sie sich faltig abhebt. Vielfach bleiben die angrenzenden Mesophyllzellen mit ihr jedoch im Zusammenhang und wachsen zu langen Schläuchen aus, die schließlich zum Teile einen großen Kristall von Calciumoxalat enthalten. Ich habe solche Bildungen bei der Galle dieser Blattlaus auf Blättern des Apfelbaumes nicht beobachten können, obwohl sich faltiges Abheben der Epidermis bei verschiedenen anderen Gallen — eine sekundäre Erscheinung — wiederholt hat beobachten lassen, möchte aber die Angaben Franks keineswegs in Zweifel ziehen, da einmal verschiedene Wirte vorgelegen haben und dann tatsächlich selbst Gallen eines und desselben Parasiten auf derselben Pflanze an verschiedenen Blättern recht verschieden gebildet sein können. Für dieselbe Galle war mir oberseits aufgefallen, daß die Epidermisaußenwände in verschiedenen Zonen verschieden dick waren, doch ist der Unterschied nicht durchgreifend, namentlich läßt sich keine Beziehung zwischen Wanddicke und Grad der Vergallung des Mesophylls ableiten, da an manchen Punkten Epidermen mit dickeren Wänden über großlumiges, nicht isodiametrisches Gewebe, in anderen über niedere Zellen der Hypodermis und des Mesophylls ziehen.

Hyperplasie der Epidermiszellen ist bei Rhynchotengallen im allgemeinen seltener. F. Thomas (99) beschreibt für ein Heteropterocecidium auf *Teucrium*, daß zur Verdickung nicht nur das Parenchym, sondern auch die Epidermis beiträgt, und daß, besonders in mittlerer Höhe der Galle, sowohl außen wie innen eine zwei- bis dreischichtige Epidermis durch Zellteilung parallel zur Oberfläche aus der normalen Oberhaut hervorgegangen ist. Die Schichten sind gleichartig, ihre Zellen plattenförmig und in der Schichtenebene nahezu isodiametrisch. Auch die *Pemphigus*-gallen nehmen an solchen Bildungen teil, wie L. Courchet (10) [l. c.]

<sup>99)</sup> Thomas, F., Über das Heteropterocecidium von *Teucrium capitatum* und andere *Teucrium*arten. (Verh. d. bot. Ver. d. Prov. Brandenb. Jg. 31. 1889. p. 103.)

für die *Pemphigus semilunarius*-Galle mitteilt: „les cellules sont ordinairement allongées parallèlement à la surface, et constituent deux ou trois assises.“ Von einer ätiologisch unklaren Gallenbildung auf Apfelblättern abgesehen (vgl. Fig. 31), die zugleich von *Aphis pomi* besetzt waren, bot nur die *Prunus*-Galle einige interessante Beispiele dafür, daß bei den Aphidengallen auch die Epidermiszellen in den Teilungsprozeß einbezogen werden können. Die besagten Teilungen bleiben stets auf einen kleinen Raum lokalisiert, umfaßten eine oder nur wenige Zellen. Die erste Teilung wird durch eine perikline Wand eingeleitet; entweder bleibt der Prozeß dann auf diesem Stadium stehen, oder die äußere der beiden Tochterzellen wird durch eine weitere Wand weitergeteilt. Die von Fig. 7 her be-

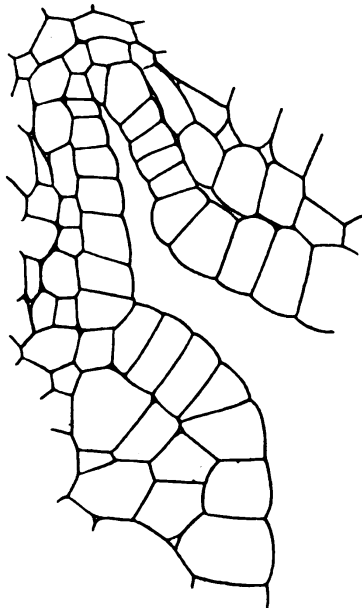


Fig. 9 b.

kannten, unregelmäßigen Wandverdickungen können auch solche Teilungswände erfassen. Beachtenswert erscheint mir ferner die Lage des Zellkernes in einer großen Zahl nicht geteilter Epidermiszellen; er befand sich auf einer Plasmabrücke, die sich periklin quer durch die Zelle ausspannte, etwa in derselben Höhe, in der in anderen Zellen die erste perikline Wand gebildet worden war. Wir dürfen daraus schließen, daß die Tendenz zur Zellteilung sehr viele Epidermiszellen beherrscht, letztere aber, aus irgendwelchen unbekannten, inneren Gründen, nur in einigen wenigen Zellen zur Ausführung kommt. Es erinnert dieses Verhalten lebhaft an die Bildung querwandähnlicher Septen, welche von Guttenberg (113) in den Epidermiszellen der von *Exoascus amentorum* infizierten *Alnus incana* beobachtet hatte. Dieses Septum entstand unter gleichzeitiger Degeneration des Zellkernes (Vgl. auch E. Küster (54) [l. c.] p. 202, Fig. 98b).

Meine Beobachtungen an *Prunus* gestatten für die *Exoascus*-infektion geradezu den Schluß, daß auch hier die Kernstellung die Ankündigung einer Zellteilung sein konnte, zu welcher es indessen infolge vorzeitiger Destruktion des Zellkernes nicht mehr kommen konnte.

Eigentümlich ist auch, daß Teilungen in Epidermiszellen schließlich zu einer Zellwandfolge nach Art der zweischneidigen Scheitelzelle führen können. Die tiefer liegende Hypodermiszelle hatte sich ebenfalls neuerdings geteilt. Es bleibt die Entwicklung allerdings auf einem frühen Stadium stehen, auf einige wenige Zellen beschränkt; die Wände werden nachträglich verdickt. Einseitig gefördertes Wachstum bestimmter Epidermiszellen führt zur Bildung unregelmäßiger Platten, die ins Galleninnere vorragen.

Abnorm kleine Epidermiszellen der Blattoberseite (Innenseite) finden sich an der *Prunus*-galle in der Zone unmittelbar über dem Mittelnerv, längs dessen die Umklappung erfolgt war. (Fig. 9b, vgl. auch Fig. 12). Während im normalen Blatte im Querschnitt sich dort die Epidermiszellen halbkreisartig gruppieren, werden sie hier in einem scharfen Knie zusammengedrückt, und sind dort an der schärfsten Biegungsstelle so klein, daß sie,

<sup>113)</sup> Guttenberg, H. v., Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilzgallen. Leipzig 1905.

im Vergleiche zu den übrigen Epidermiszellen, wie Zwerge neben Riesen aussehen.

**Stomata.** Abnormitäten in der Verteilung der Stomata sind für die Ulmenblattlausgallen bekannt. Molliard (71) [l. c.] erwähnt neuerdings den Mangel an Spaltöffnungen an der Innenseite (Unterseite) der *Tetraneura ulmi*-Galle. Für die *Schizoneura lanuginosa*-Galle wissen wir durch Frank, daß nicht nur die der Blattunterseite entsprechende innere Oberfläche der Galle, sondern auch die der Oberseite entsprechende Außenfläche Stomata trägt, obwohl die Oberseite normaler Blätter spaltöffnungsfrei ist. Bei den von mir untersuchten Gallen waren Spaltöffnungen, namentlich an den einfacheren Typen, stets vorhanden, während sie an den komplizierteren, stärker abgeleiteten Gallen, wie der Aphiden auf *Lonicera*, auf *Fraxinus* und *Prunus*, entweder vollständig unterdrückt waren, oder doch aus ihrem Bau den Schluß auf Funktionsuntüchtigkeit gestatteten. An der *Prunus*-galle war z. B. die Zahl der Stomata sehr spärlich, und zuweilen ließen sich Zellteilungen feststellen, die auf ein Stehenbleiben in der Entwicklung der Schließzellen auf einem früheren Stadium hindeuteten. Manchmal erschienen die Stomata, besonders an der Mittelrippe, emporgehoben; unter ihnen fand sich ein größerer Interzellularraum. Auf die physiologische Seite der Frage kommen wir noch im Zusammenhang mit der Besprechung der Durchlüftung der Gallengewebe zurück.

**Trichome.** Die Blattlausgallen gehören im allgemeinen zu den trichomarmen Cecidien, insofern an Epidermiszellen, die normalerweise zur Haarbildung nicht prädestiniert sind, selten infolge von Vergallung neue Trichome auftreten. Den zahlreichen, in der Literatur bekannten Beispielen reihen sich alle sechs von mir untersuchten Blattrollgallen an, in keinem Falle ist es zur Ausbildung neuer Haare gekommen. Am längsten bekannt sind wohl die zahlreichen Haare „dans la région de raccord de la face inférieure (Molliard)“ der *Tetraneura ulmi*-galle, die bereits L. Courchet ausführlich beschrieben hatte und die gleichzeitig mit der Zellvermehrung des Parenchyms ungemein reichlich entstehen, „dont le rôle est évidemment de protéger les insectes tant que la galle n'est pas close par l'accroissement des tissus à sa base.“ Diese Haare tapezieren die ganze Innenseite der Galle aus. Zahlreiche und sehr lange Haare an der Ober- und Unterseite sind auch für die *Schizoneura lanuginosa*-galle bekannt. Küster (54) [l. c. p. 214 ff.] unterscheidet an den beutelförmigen Aphidengallen an den einheimischen Ulmen außen lange, spitze Haare, während innen kleine, kurze Härchen mit abgerundeter Spitze zur Ausbildung kommen. Die *Pemphigus spirothecae*- und *marsupialis*-gallen auf *Populus* tragen auf der Innenfläche verschieden gestaltete, unregelmäßig proliferierende Haare (auch zu vgl.: Docters van Leeuwen-Rijnvaan (17), während für die *Pemphigus semilunarius*-galle auf *Pistacia* die Beschränkung der Behaarung auf den äußersten Rand des umgeschlagenen Blatteiles bekannt ist. Es ist jedenfalls interessant, daß die normale Anatomie ebenfalls ein solches sich mit dem Blattrand Ändern in der Haarentwicklung kennt, wie die Blütenblätter von *Ruscus* arten zeigen. (vgl. F. Zweigelt (109) [l. c. Taf. IX, Fig. 90] für *Ruscus hypophyllum*);

<sup>17)</sup> Docters van Leeuwen-Rijnvaan, J. u. W., Beiträge zur Kenntnis der Gallen auf Java. II. Über die Entwicklung einiger Milbengallen. (Ann. d. jard. botan. d. Buitenzorg. T. 23. (8.) 1910. p. 119.)

allerdings ist dort der Blattrand die Zone alleiniger starker Haarentwicklung gewesen, hier aber die Übergangszone von der behaarten Außen- zur unbehaarten Blütenblattinnenseite. Küster (54) [l. c. p. 224] hebt schließlich noch den Formenreichtum an Drüsenhaaren hervor, welche auf *Ribes*-blättern durch die Infektion mit *Myzus ribis* entstehen.

Waren fast alle die oben beschriebenen Trichome Neubildungen an normalerweise haarfreien Epidermiszonen, so sind die Veränderungen, die normale Haare, infolge der Vergallung des ganzen Blattes, erfahren können, nicht minder interessant, weil sie zeigen, daß die physiologischen Umwertungen in allen Zellen auch vor den Haaren nicht Halt machen, und der Grad und die heterogene Art der Umbildung dieser zu Elementen des Gallengewebes belehrt uns, daß sozusagen alle ursprünglichen physiologischen Differenzierungen verwischt werden, so daß solche Haare nicht anders zu bewerten sind, als irgendwelche andern parenchymatischen Elemente der Galle, deren

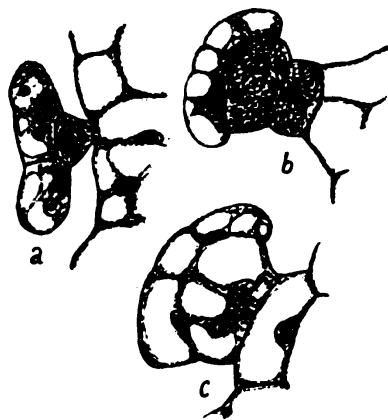


Fig. 10.

Proeminenz über die Oberfläche nur dem Umstande zuzuschreiben ist, daß die Mutterzellen hierzu eben Haare waren und, infolge deren primären Entwicklung, schon einen mehr als einseitigen Zusammenhang ihrer Zellen mit dem übrigen Blattgewebe verloren hatten, zu einer Zeit, als die Galleninfektion erfolgt war und das Blatt in eine pathologische Weiterentwicklung gedrängt hatte.

Ich beziehe mich hierbei auf die Schuppenhaare auf *Fraxinus* (vgl. De Bary (1) p. 67), der einzigen Galle, an der ich derartige Verbildungen zu sehen Gelegenheit hatte, während alle anderen Gallen ihre Trichome unverändert trugen, vor allem die einzelligen, konischen, derben Haare.

Der Weg der Veränderungen ist folgender: Zunächst wird die ganze Schuppe, die in der normalen Anatomie eingesenkt ist und mit der Epidermis in derselben Höhe liegt, emporgehoben (Fig. 10 a). Die Zellen selbst sind unregelmäßig, die Stielzelle verhältnismäßig klein, die tieferliegenden Epidermiszellen zeigen außerordentlich unregelmäßige Teilungen. Eine weitere Veränderung zeigt 10 c: die Stielzelle ist hier durch antikline Wände in drei nebeneinanderliegende Zellen sehr verschiedener Größe geteilt worden, die drei Tochterzellen sind zugleich mit ihren Kernen stark hypertrophiert und drängen sich in steiler Wölbung in den Kranz der Strahlzellen hinein. Die Zellen der 16 zelligen Scheibe erscheinen dadurch müthenförmig über den mehrzelligen Stiel herabgezogen und lassen durch ihre Lage deutlich erkennen, daß die Seitenwände des Stieles am schwächsten, die periklinen am stärksten wuchsen, so daß also die Hypertrophie im wesentlichen eine Verbreiterung der Haarbasis hervorgerufen und eine hauptsächlich senkrecht zur Blattfläche von dieser wegstrebende Entwicklungsrichtung genommen hat. Schließlich fanden sich Schuppen, deren Stiel sich nicht in neben-, sondern in übereinander liegende Zellen geteilt hatte (10 b), wodurch und durch eine gleichzeitige bedeutende Proeminenz der als Basis dienenden Epidermiszellen die ganze Schuppe keulenförmig vorragt.

<sup>1)</sup> de Bary, A., Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane. Leipzig 1877.



Diese Beobachtungen stehen nicht vereinzelt da. *Küstenmacher* (49) [l. c.] hat pathologische Veränderungen an den Haaren von Blättern durch Aphidenbefall beschrieben. Die Erbsenblattlaus, die an den Blättern von *Geum rivale* nach der Oberseite konvex hervortretende, meist rotbraune, auf der Unterseite hohle, behaarte Vertiefungen bildet, läßt, infolge des Gallreizes, die sonst auf der Pflanze vorhandenen, spitzen, starkwandigen, gewöhnlich auf einer warzenartigen Erhöhung stehenden, einzelligen Haare innerhalb der Gallhöhlung zu schlauchförmigen, dünnwandigen, an der Spitze abgerundeten oder kürzeren, kolbenförmigen Epidermisgebilden werden, welche arm an Gerbstoff sind. Die *Erineumbildung*, die *Ew. H. Rübsaamen* (24) beschreibt, ist deshalb von besonderem Interesse, weil auch Deformationen von Stielzellen und Strahlzellen infolge der Infektion sich ergeben. p. 213 beschreibt er ein *Erineum* auf *Phlomis samia* L., wobei im Vergleiche zu den normalen Haaren der Stiel der deformierten sich um das dreifache verlängerte, während die Haarspitzen krönenden Strahlen stark verkürzt waren. Seitliche Auswüchse am Stiel, die bei den normalen nicht selten sind, haben den deformierten gefehlt. Ferner unterscheiden sich die Stiele auch gestaltlich in beiden Fällen. Deformationen an Sternhaaren, die hauptsächlich die Strahlzellen ergriffen, beschreibt *Rübsaamen* für zwei *Erineum*arten auf *Quercus ilex* L.; bei dem einen sind die Sternhaare den normalen gegenüber wenig verlängert, gestaltlich ziemlich unregelmäßig, die einzelnen Strahlen sehr schmal und verjüngen sich nach der Spitze zu ganz allmählich, selten sind sie ziemlich gleich breit, bei abgerundeter Spitze.

Sehr interessante Deformationen der normalen *Teucriumhaare* durch Heteropteren beschreibt *F. Thomas* (99) [l. c.]: „Bemerkenswert ist das Verhalten der Haargebilde bei der Deformierung. Die fadenförmigen, kegelförmig sich zuspitzenden, fast immer einfachen und nur aus einer Zellreihe bestehenden langen Haare der normalen Krone fehlen der Galle fast ganz. . . ebenso wenig fand ich an der Galle Andeutungen der zarten, sitzenden Drüsen, die durch die Größe ihres einzelligen Kopfes an der normalen Krone bei mikroskopischer Untersuchung auffallen, der eben erwähnte, feine Anflug der Gallenoberfläche besteht vielmehr ausschließlich aus gestielten Drüsenzellen und ist dadurch entstanden, daß die zarten, kleinen, an der normalen Krone dem unbewaffneten Auge entgehenden Drüsenhaare an der hypertrophischen Vergrößerung teilnahmen. Normal ragen sie nur 0,023—0,028 mm hoch über die Epidermis und haben einen ein- selten zweizelligen Stiel; an der Galle sind sie durchschnittlich fünfmal so groß und haben einen zwei-drei- zuweilen selbst fünfzelligen Stiel.“ Dieses Verhalten des Stieles ist eine wertvolle Parallele zu meiner Beobachtung an *Fraxinus*, denn sie zeigt, daß die Stielzellen solcher Haare Hypertrophien und Hyperplasien leicht zugänglich sind, leichter, wie es scheint, als die übrigen Haarkomponenten. Für die Drüsenhaare der *Perrisia-persicariae*-Galle auf *Polygonum*, die *Küster* (54) [l. c. p. 216] beschreibt, lassen allerdings Form und Zellenzahl des Köpfchens und des Stieles keine Gesetzmäßigkeit erkennen.

Die gleiche Ursache, die *Thomas* dafür, daß gerade diese Haare an der Hypertrophie teilgenommen haben, anspricht, nämlich das zeitliche Zusammenfallen ihrer Ausbildung mit derjenigen der Galle selbst, möchte

<sup>24)</sup> *Rübsaamen*, *Ew. H.*, Über Zooecidien der Balkanhalbinsel. (Illustr. Zeitschr. f. Entom. Bd. 5. 1900. p. 177, 194.)

ich auch für die *Fraxinus*-galle für wahrscheinlich halten. Aus demselben Grunde sind wohl die derben Haare, selbst an Gallen, die an und für sich starke Gewebeveränderungen erfahren haben, wie z. B. auf *Pirus malus* durch *Aphis oxyacanthae*, da sie zur Zeit der Gallenbildung wesentlich fertig und schon außerordentlich dickwandig waren, von der pathologischen Veränderung nicht ergriffen worden. Daß die Trichome mit dem übrigen Gewebe in der Entwicklung nicht gleichen Schritt halten, zeigen am besten die außerordentlich dickwandigen, stark verholzten, konischen Haare auf *Lonicera xylosteum* der *Prociphilus*-galle, deren übrige Gewebe stellenweise wenigstens noch typisch meristematischen Charakter tragen; wenn die auf *Lonicera* vorhandenen, zellwandigen Köpfchenhaare intakt blieben, so hängt das offenbar mit dem geringen Intensitätsgrade der Vergallung des ganzen Blattes durch die Besiedelung mit *Prociphilus xylostei* zusammen.

**Assimilationsgewebe.** Dem im Kapitel „Mesophyll im allgemeinen“ Gesagten ist nur noch wenig nachzutragen. Wie unter anderen C. Howard (38) [l. c.] für die *Asterolecanium*-besiedlung gefunden hat, macht der Vergallungsprozeß vor dem Palisadengewebe keineswegs Halt, sondern zieht dasselbe in verschiedenem Grade in Mitleidenschaft, indem die Pflanze ihre ursprüngliche Hauptfunktion unter äußeren Zwängen einer neuen unterordnet. Der Grad der Umgestaltung des Palisaden- und Schwammparenchyms ist außerordentlich wechselnd, und es lassen sich alle möglichen Zwischenstufen bei den 6 Gallen beobachten. Wo auf einer Blattpartie, wie z. B. in der Mittelzone bei *Fraxinus* (Fig. 30 n), keine Infektion stattgefunden hat, dort bleibt das Assimilationsgewebe erhalten, bzw. kommt normal zur Ausbildung. Das Resultat ist dann entweder das, daß die ganze vergallte Zone als Assimilationsgewebe nur in bescheidenem Maße in Betracht kommt, oder aber die Funktion der Palisaden wird vollständig vernichtet und von einer neuen verdrängt, wie das am schönsten die großen Hypodermiszellen der Blattoberseite an der *Prociphilus*-galle auf *Fraxinus* zeigen. Auch die Thysanopterengallen nehmen eine ähnliche Entwicklung (vgl. H. Karny und J. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (42) [l. c.]).

**Mechanisches Gewebe.** Es gehört zur Charakteristik der Kataplasmen und speziell der Aphidiocecidien, daß sozusagen alle mechanischen Elemente unterdrückt werden. Vergleichen wir noch einmal die Figuren 4 und 5, so fällt sofort auf, daß das hier Bastschienen vertretende mächtige, ventrale und das schwächer entwickelte, dorsale Nervencollenchym des normalen *Lonicera*-blattes in der *Prociphilus*-galle, aber auch an der Aphidengalle, vollständig fehlt; kaum eine Spur von Wandverdickungen erinnert an das normale Verhalten. Ein ähnliches Schicksal widerfährt den Bastzellgruppen, die die gesunden Nerven des *Prunus*-, *Fraxinus*- und *Pirus malus*-blattes begleiten und speziell bei dem letzteren mächtige Beläge der Gefäßbündel unterseits, schwächer oberseits, bilden. In Übereinstimmung hiermit fehlen dickwandige Zellelemente auch an den Gallen des *Pemphigus bursarius* und *Pemphigus spirothecae*. Die Gallen des *Pemphigus semilunarius* auf *Pistacia* besitzen auf der Unterseite, also an der vom Parasiten abgewendeten Seite des Wirtsorganes, mechanische Elemente in Form mehrerer sklerotisierter Zellagen. Auch Thysanopterengallen stimmen hiermit überein, indem bei *Cryptothrips fuscipennis* auf *Spatholobus litoralis*

und *Gynaikothrips chavicae* auf *Piper Bette* Bastfaserscheiden nur auf die Hauptnerven beschränkt bleiben, bzw. die Sklerenchymzellen nicht zur Entwicklung gelangen (H. Karny und J. Docters van Leeuwen-Rijnvaan).

Ein unstreitig abweichendes Verhalten zeigen die Coccidengallen, deren Zellen für die oben schon genannten *Asterolecanium* gallen (C. Howard (38) [l. c.]) dicke, verholzte, mit langen Tüpfeln versehene Wände haben, bzw. auf *Teucrium* (Abbé Pierre (75) [l. c.]) durch eine solche Infektion ein viel mächtigeres Sklerenchym zur Entwicklung kommt. Die Rigidität vieler Blattrollen ist nicht auf mechanische Festigung, sondern auf gesteigerten Turgor zurückzuführen. Die Unterdrückung der mechanischen, die Beständigkeit der Blattspreite garantierenden Zellen ist übrigens die notwendige Voraussetzung für die pathologischen Formveränderungen, auf die wir noch im nächsten Kapitel zurückkommen werden.

**Leitungsgewebe.** Wie schon Küster (54) allgemein anführt, sind die Gefäßbündel in vielen Gallen, namentlich solchen, die zu den Katalpasmen gehören, in ihrer normalen Entwicklung vielfach beeinträchtigt. Veränderungen möchte ich hier dreierlei festhalten: 1. in der absoluten Zahl der im Querschnitt auftretenden Zellen eines Bündels der Galle im Vergleiche zu einem solchen eines gleichwertigen Nerven des normalen gesunden Blattes; 2. in der Entwicklung der einzelnen Zelltypen und dem abnormen Vorherrschen bestimmter; 3. in der Verteilung und im Verlaufe der Bündel im Gallengewebe. Für den ersten Typus sei wieder auf den Vergleich der beiden Figuren 4 und 5 hingewiesen, von zwei Nerven, die einander ungefähr entsprechen. Waren im normalen Bündel drei Gefäßreihen, so zeigt das ganze Gallenbündel nur eine solche und darunter ein kleines Feld von Siebelementen, deren eine große Zahl das Leptom des Nerven des gesunden Blattes zusammensetzt. Beachtenswert ist, daß das pathologische Bündel, trotz seiner schwachen Entwicklung, die Palisadenreihen weiter auseinander schiebt, als das vielmal größere des normalen Nerven, in dem es gleichzeitig gewissermaßen oberseits gewandert ist. Dasselbe Mißverhältnis in der Größe äquivalenter Bündel in normalen und in Gallenblättern zeigen auch andere Gallen (*Aphis pomi* usw.). Dazu kommt als zweites Moment das in der Literatur bereits bekannte Vorherrschen parenchymatischer Elemente zu ungunsten der leitenden; demzufolge sind für die *Schizoneuragalle* „les nervures beaucoup plus riches en parenchyme que celles de la feuille saine; il en résulte que les éléments vasculaires sont plus écartés les uns des autres: les faisceaux sont moins compacts (Mollard (71)).“ Diese Charakteristik gilt auch für alle von mir beobachteten Fälle. Dazu kommt ein geringer Grad von Verholzung in den Gallen, die stellenweise auf ein Minimum reduziert war (*Prunusgalle*, *Aphis oxycantha* e). Starke Rückbildungen in den Gefäßbündeln zeigen sich im allgemeinen dann, wenn die Vergallung, wie bei den beiden letztgenannten und bei der *Fraxinusgalle*, sehr weit vorgeschritten ist und zur Entwicklungshemmung noch passive Veränderungen anderer Art hinzutreten.

Ist durch die Vergallung die betreffende Blattlamina zugleich auch in ihrer Breitenentwicklung beeinträchtigt, wie z. B. in der einen der beiden *Prunusgallen*, dann drängen sich die Gefäßbündel auf einen ziemlich kleinen Raum zusammen, was eine Vermehrung derselben vortäuscht, die indessen nur relativ zum vorhandenen Gallengewebe, nicht aber absolut obwaltet. Auch

*Aphis oxyacanthae* läßt stellenweise solche Bilder entstehen (vgl. Fig. 6). Eine absolute Vermehrung ist in keinem Falle gegeben, im Gegenteil, der ganze Leitungsapparat bleibt, mit einem normalen Laubblatte verglichen, bedeutend zurück. Die enge Aneinanderfügung der Gefäßbündel auf einen kleinen Raum ist zum Teil vielleicht mit die Ursache für eine Reduktion des assimilatorischen Apparates dortselbst.

Im Mittelnerv der von mir untersuchten *Fraxinus* galle, an der sich vergalltes Gewebe nur an einer Seite anschloß, war die von der normalen Anatomie her bekannte Gruppierung der Bündel (alle nahezu in einem Kreise miteinander zugekehrten Hadromteilen) erhalten geblieben. Ein doppelter Zellbündelkreis, dessen innere Bündel spiegelbildlich mit ihren Leptomteilen und Hadromteilen zu denen des äußeren Kreises orientiert sind, ist für die *Pemphigus bursarius* galle auf *Pistacia* bekannt. Geringere Veränderungen zeigen die Gefäßbündel der *Tetraneura ulmi* galle, „ils se sont accrus seulement en longueur pour suivre l'allongement de l'excroissance“ (L. Courchet (10) [l. c.]).

## Physiologische Anatomie.

### I. Störungen der normalen Physiologie an gallen-tragenden Blättern.

**Transpiration.** Bezügliche experimentelle Untersuchungen liegen bloß von E. Küster (54) vor. Küster glaubt, aus dem anatomischen Bau der Stomata an Gallen schließen zu sollen, daß sie gegen Wasserverlust wenig „geschützt“ sind (p. 244), jedenfalls häufig schlechter als die entsprechenden normalen Wirtsorgane, verschließt sich aber keineswegs der Tatsache, daß sehr häufig die morphologischen Verhältnisse eine Transpirationsverminderung zur Folge haben würden. Küster hat dabei besonders die den normalen Rollblättern vergleichbaren Blattrollgallen, Beutellgallen und andere, deren Innenfläche zweifellos nur sehr geringe Mengen Wasserdampf abgeben können, schließlich die Kugelgallen, deren transpirierende Oberfläche im Vergleiche zum Volumen eine sehr geringe ist, vor Augen. Interessant sind seine Versuche mit *Ribes* blättern und *Myzus* ribisgallen, die, von der Achse losgelöst, und an der Luft liegen gelassen, ungleich stark welken. Die infizierte Blattspreite verliert in 6 Stunden nicht ganz  $\frac{1}{10}$  ihres Frischgewichtes, die normalen Blätter etwa  $\frac{1}{5}$ ; „derselbe Unterschied macht sich beim Vergleiche normaler und infizierter Blätter bemerkbar, wenn ganze Triebspitzen in Wasser gestellt, auf ihre Transpiration geprüft werden; die Mengen des abgegebenen Wasserdampfes verhalten sich unter diesen Umständen bei *Myzus* blättern und normalen ungefähr wie 10 : 15, auf gleiche Flächen berechnet.“

Für Küsters Vermutung, daß die Transpiration auf die Ausbildung der äußeren, aber auch der inneren Gallengewebe von Einfluß sein könnte, bringe ich folgende Belege: Das Regulativgewebe der Transpiration, die Stomata, haben bei der *Schizoneura lanuginosa* galle eine dorsale und zugleich ventrale Entwicklung erfahren, und mit Recht sagt Mollard (71) [l. c.], daß „ce déplacement du tissu stomatique est un fait digne d'attirer l'attention, puisqu'il s'agit d'une localisation complètement modifiée par un ensemble de conditions extérieures, réalisées ici par un parasite.“

Eine solche Förderung des Durchlüftungsgewebes, die nur aus einem gesteigerten Bedürfnis der Pflanze nach Wasserabgabe erklärt werden kann, scheint mir jedoch beschränkt durch den Grad der unter äußerem Zwange

durchgeführten äußeren und inneren Veränderungen, durch den Grad der Hypertrophie und Hyperplasie, wovon ja alle Gewebesysteme in Mitleiden-schaft gezogen werden, demnach auch der Spaltöffnungsapparat nicht ver-schont bleibt. Auf den destruktiven Charakter des Gallreizes, der unter Ver-nichtung der normalen, aus der Physiologie gegebenen Anatomie lauter gleich-artige Elemente zu schaffen sucht, möchte ich es zurückführen, daß wir, trotz des gesteigerten Transpirationsbedürfnisses, bei den so stark vergallten Blatt-rollen häufig zugleich eine Verminderung des Spaltöffnungsapparates finden, dessen Schließzellen entweder unentwickelt bleiben, oder funktionsuntüch-tig werden. An Stelle der stomatären tritt dann die kutikuläre Transpira-tion, auf deren geringe Leistungsfähigkeit vielleicht auch das Ergebnis der Welkungsversuche K ü s t e r s zurückzuführen ist.

Sind schon die Blattrollen selbst bei angenommen gleichwertiger ana-tomischer Konstruktion des Spaltöffnungsapparates hinsichtlich der Tran-spiration gegenüber normalen Blättern stark im Nachteile, so gilt dies wohl im höchsten Maße für meine P r u n u s galle, deren Spreiten um den Mittel-nerv umgeklappt und zugleich so sehr verkürzt sind, daß die transpirations-fähige Oberfläche tatsächlich auf ein Minimum reduziert erscheint. Dazu kommt, daß gerade diese Galle ein sehr dickes, vielschichtiges Gewebe besitzt und somit hinsichtlich der Durchlüftung unter allen von mir untersuchten Gallen am schlechtesten gestellt sein dürfte. Und von diesem Gesichtspunkte aus erscheinen die beiden bereits beschriebenen Figuren 7 und 8 eher verständlich. War das Interzellularensystem Fig. 7 fast ver-schwunden, so stellt das Durchlüftungsgewebe in Fig. 8 geradezu das herr-schende Prinzip jener Blattpartie dar; alle Elemente sind zugunsten der Durch-lüftung unterdrückt, und es macht den Eindruck, als hätte das infizierte Blatt, das an den meisten Punkten infolge des Vergallungsprozesses ein viel-zelliges, interzellularenarmes, dichtes Gewebe hatte schaffen müssen, dieses Mißverhältnis gewissermaßen aus sich selbst heraus korrigiert und an anderen Punkten alle jene Luftwege sozusagen zusammengetragen. Die vereinzelt beobachtete Elevation der Stomata wäre aus demselben Prinzip zu erklären.

Ob und in welchem Grade neben der Transpiration auch die Atmung dieses Bauprinzip bedingt hat, bleibt dahingestellt; daß Gallen stärker atmen, hat K ü s t e r für die Blattstielgallen des *Pemphigus bursarius* auf *Populus pyramidalis* festgestellt. 10 g frische Gallen lieferten in einer Stunde 34,66 mg Kohlensäure, normale Blattspreiten nur 24,00 mg.

Jedenfalls zeigen solche Bilder, daß der Gallenreiz nur den Rahmen darstellt, innerhalb dessen sich die Gewebe in destruktiver Richtung, aber doch bis zu einem gewissen Grade, frei umbilden können und daß der spe-zielle Aufbau auch im Gallengewebe zum Teil von den physiologischen Be-dürfnissen des betreffenden Gewebes diktiert ist. Mit der verminderten Transpiration hängt, wie schon K ü s t e r betont, der Mangel oder die verminderte Ausbildung der Kalziumoxalatkristalle zusammen, so daß wir aus dem letzteren Verhalten auf geringe Transpiration, bezw. auf ein bedeutendes, zum Teil auf abnormen Saftzustrom zurückzuführendes Tran-spirationsbedürfnis schließen dürfen.

**Assimilation.** Die Beeinträchtigung bis Vernichtung der Assi-milationstätigkeit der Gallenblätter ergibt sich unmittelbar aus dem ana-tomischen Bau und bedarf erst der experimentellen Bestätigung.

**Stoffleitung.** L. Geisenheyner (24) [l. c.] erwähnt, daß sich Cocciden zuweilen an der Mittelrippe der Blätter von *Hieracium*

*praecox* festsetzen und daß in den meisten Fällen die Spreite oberhalb der Ansatzstelle abwelkt. Diese Bevorzugung des Stofftransportes zur Gallenzone findet auch in den Beobachtungen Küstenmachers (49) [l. c.] ihren Ausdruck: „Stört man die Wasserzufuhr der Pflanze, so geht die Galle, aber stets noch früher andere Teile der Pflanze (darüber hinausgehende Sprosse, benachbarte Blätter usw.) zugrunde, da nach den Gallen hier der Hadromteil fast durchwegs verstärkt ist. Der Mittelnerv des Ulmenblattes, welches mehrere Gallen der *Schizoneura compressa* trägt, zeigt dies sehr deutlich.“ Die Auffassung der verstärkten Leitungselemente möchte ich wohl nicht verallgemeinern und sehr vorsichtig wiedergeben, denn nach allen meinen Beobachtungen war eher das Gegenteil der Fall, eine Verminderung der Hadromelemente das herrschende Bauprinzip. Überhaupt kann ich dem vermeintlich geänderten Bündelbau keine allzugroße Bedeutung beimessen, da die seinerzeit von mancher Seite geäußerte Vermutung, daß das Verwelken von Pflanzenorganen durch das Saugen von Läusen eine Folge verengter Gefäße wäre, sich keineswegs als stichhaltig bewiesen hatte. Nach Art der einseitigen oder einseitig bevorzugten Überwallung mehrjähriger Querwände an Bäumen in erster Linie von oben her infolge des absteigenden Saftstromes sucht auch Küster (51) [l. c.] den monosymmetrischen Bau der *Pemphigus bursarius* gallen zu erklären.

**Kernphysiologie.** In der Zone der Riesenzellen der *Prunus*-galle, namentlich an tieferliegenden Punkten und in größerer Nähe des Leptoms des Mittelnerven, fanden sich Knickungen und Verbiegungen bestimmter Zellwände, die uns später noch interessieren werden; von diesen Verknickungen werden manchmal auch die Riesenzellen selbst getroffen, wie Fig. 5 e zeigt. Hier liegen drei Zellen vor: eine zweikernige und zwei einkernige; in der einen ist die Innenwand an zwei Stellen faltig nach innen geknickt, in der zweiten die linke Zellwandpartie etwas verbogen, in der dritten schließlich die Grenze an den beiden folgenden Zellen an zwei Stellen eingedrückt und gefaltet. Es ist außerordentlich auffallend, daß die Zellkerne mitsamt der Hauptmasse des Protoplasmas den geknickten Wandzonen anliegen, also offenbar ein aktives Verhalten zeigen, ja es ist sogar denkbar, daß die Zelle rechts, deren Größe ihr noch nicht den Charakter einer Riesenzelle geben würde, infolge des Reizes, den die Einknickung der Wand in Form von Druck auf die äußere Hautschicht des Protoplasten ausgeübt hat, zur Kernteilung geschritten war, ähnlich wie es für Pilzgallen bereits bekannt ist (vgl. H. von Gutenberg (113) und die übrige in meiner Arbeit (112) zusammengestellte Literatur). Jedenfalls müssen wir annehmen, daß Plasma und Kern vorerst zwischen den verschiedenen Reizen nicht unterscheiden und zunächst durch eine solche „Abwehr“stellung reagieren. Sicherlich vermehren diese Fälle das bereits bekannte Beweismaterial für die viel umstrittene aktive Rolle des Zellkernes in der Pflanzenzelle.

## II. Die Entstehung der Blattrollen.

So zahlreich die Arbeiten sind, die sich mit Blattrollen als Zooecidien beschäftigen, so sehr man in vielen Fällen auch die anatomischen Details zu ermitteln getrachtet hat, so fehlt doch fast überall die Beantwortung der sich fast unvermittelt ergebenden Frage: Wie entstehen die Blattrollen? Welche anatomisch-physiologischen Grundlagen lassen

bald revolute, bald involutive Gallrollen entstehen? — zunächst ganz abgesehen und unabhängig vom Parasiten. Denn zu sagen: Die den Parasiten abgewendete Seite wächst stärker, ist erstens nicht einmal ganz richtig und dann führt uns ein solches Urteil nicht um einen Schritt weiter, weil wir trotzdem nicht erfahren, in welcher Weise die Pflanze aktiv auftritt und wo das hauptsächlichste Bewegungswachstum und mithin das Bewegungsgewebe zu suchen ist.

Schon Kerner (44) [l. c.] hat die Ansicht vertreten, daß die Rollen dadurch entstehen, daß von dem von den Tieren besiedelten Gewebe die eine Seite stärker, die andere aber schwächer wächst. Es wird aber zu ermitteln sein, worauf diese Wachstumsdifferenz, dieses Entwicklungsgeschwindigkeitsgefälle zurückzuführen ist, ob Hypoplasie, Hypertrophie oder Hyperplasie oder eine Kombination mehrerer dieser Methoden die direkte Ursache sind, Möglichkeiten, die schon A. H. Gre villius (26) [l. c.] für die Thysanopterengallen zur Erklärung herangezogen hat.

Den Grad der Vergallung und der Rollung zu trennen, ist schwer und auch überflüssig. Wenngleich Blattrollen von äußerlich ähnlichem Ansehen entstehen können, deren Intensität im anatomischen Umbau eine bescheidene sein kann, so gibt es anderseits doch keine Blattlausgalle auf Blättern, die zugleich mit einem abnormen anatomischen Bau nicht auch schon das Phänomen der Rollung zeigte, der einseitigen Krümmung, Eindellung, Fältelung usw.; daß also in den anatomischen Charakteren gleichzeitige auch schon physiologische eines Bewegungsgewebes bestimmte Richtung und Intensität zu suchen sind. Schon L. Courchet ist diese Tatsache für die *Schizoneura lanuginosa* galle aufgefallen: „Le limbe ou la partie qui est employée la galle, c'est hypertrophié en même temps que s'effectuait son enroulement. Dans tous les cas la forme de la feuille est profondément altérée.“ Im dritten Hauptkapitel, Aetiologie, wird zugleich mit dem abnormen inneren Bau auch immer das Phänomen der Blattrollung gemeint sein.

Wenn nun C. Howard (36) [l. c.], allerdings für die *Copium* galle auf *Teucrium*, bewiesen zu haben glaubt, daß „tous les tissus sont capables d'évoluer dans le même sens, sous l'influence d'actions paraitaires“, so mag das zwar für die Entwicklungsrichtung im Sinne der Destruktion gelten, wie wir von der Anatomie her wissen; für die Intensität der Reaktivität bestimmter Gewebe trifft das jedoch nicht zu, denn gerade das Entwicklungsgeschwindigkeitsgefälle pathologischer Natur in den einzelnen Blattgeweben ist die unumgängliche Grundlage dafür, daß Rollen entstehen können. In dieser Hinsicht müssen wir einmal auseinanderhalten das Mesophyll oder, besser gesagt, die zwischen größeren Blattnerven gelegenen Felder der Blattspreite und die Nerven selbst, und dann ist zu unterscheiden zwischen den einzelnen Gewebesystemen der bündelfreien Blattspreite selbst. Auf die erstere Unterscheidung weisen schon H. Karny und J. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (42) [l. c.] für die Thysanopterengallen hin und betonen, daß die wichtigsten Veränderungen in der Blattspreite vor sich gehen und die Nerven sich gewöhnlich nur wenig oder gar nicht beteiligen. Diesen Satz möchte ich schon hier dahin korrigieren, daß wir Nerven und Gefäßbündel scharf auseinanderhalten müssen. Die Gefäßbündelelemente (Hadrom und Leptom) und die sie umscheidenden Bastschienen machen allerdings eine regressive Entwicklung durch, keineswegs aber die parenchymatischen, in der normalen Spreite meist kollenchymatisch verdickten

Gewebemassen, die hauptsächlich ventral zur Entwicklung kommen und die bekannte Proeminenz der größeren Blattrippen verursachen. Die kolossale Bedeutung gerade dieser Gewebzone für aktives Bewegungswachstum wird uns alsbald klar werden.

Dafür nun, daß immer bestimmte Zellen eines Pflanzenorganes mit lebhafterem Wachstum reagieren, führt Küster (53) einen Versuch an, den er mit *Populus* blättern, denen die Möglichkeit reichlicher Wasseraufnahme gegeben war, durchgeführt hatte. Dabei wuchsen die Mesophyllzellen zu sehr langen, plasmaarmen Schläuchen heran, während die Epidermiszellen untätig blieben. Küster vermutet, daß die Mesophyllzellen osmotisch wirksame Substanzen in größerer Menge als die Epidermiszellen enthalten, so daß ein höherer Grad von Turgeszenz für die ersteren erreichbar wird. Eine interessante Spezialisierung der pathologischen Wachstumsfähigkeit bestimmter Zelltypen des Mesophylls findet sich bei Buscalioni und Muscatello (5) [l. c.] p. 38: „Fra le cellule del parenchime verde fondamentale hanno maggior attitudine a proliferare quelle de lacunoso; un po' meno frequentemente, forse reagiscono gli elementi del palizzata quasi ad attestarsi che sono più differenziati delle prime.“

Die Verschiedenheiten in der Ausgestaltung bestimmter Gewebesysteme sind namentlich deshalb so groß, weil wir es in einem Falle mit involutiven, im anderen mit revolutiven Rollen zu tun haben, in wieder anderen Fällen Fältelungen (Kerbungen im Querschnitt) auftreten, und wir es in ihnen anscheinend mit einem Gemisch beider Typen zu tun haben, wenn auch schließlich ein System prävaliert und dem Blatte eine definitive Rollungsrichtung vorschreibt. Mein Bestreben war nun darauf gerichtet, sämtliche Rollen auf einen einheitlichen Bauplan zurückzuführen und zu zeigen, daß es in jedem Blatte ganz bestimmte Aktivitäts- und ganz bestimmte, ihnen entgegengesetzte Passivitätszonen gibt, aus deren Zusammenwirken sich sämtliche Spezialfälle werden erklären lassen; ja wir werden auch sehen, daß die beiden hauptsächlichsten Bewegungsgewebe, deren Ziel der entgegengesetzte Effekt ist, miteinander in Widerstreit kommen, bis schließlich die eine oder die andere Aktivitätszone prävaliert.

Es wird sich im Verlaufe der Betrachtungen weiter ergeben, daß eine scharfe Trennung von Hypoplasie und Hypertrophie bestimmter Gewebe schwer durchführbar, ja nicht einmal zweckmäßig ist, weil wir besser daran tun, um die physiologische Seite der Frage zu erledigen, die einzelnen Gewebe einer Blattrolle — freilich das normale Blatt daneben als Maßstab — untereinander zu vergleichen und zu ermitteln, ob das Wachstum bestimmter Zellen relativ gefördert ist gegenüber anderen, nicht aber, ob absolute Hypertrophie vorliegt, denn es ist ganz gut möglich, daß bestimmte Zellen relativ hypertrophiert, absolut aber trotzdem hypoplasiiert sind, da ja die Gallengewebe an und für sich aus durchschnittlich kleineren Zellen zusammengesetzt sind. Für uns aber können nur die relativen Verhältnisse maßgebend sein, weil sich hinsichtlich eines bestimmten Übergewichtes doch nur die Zellen der Galle untereinander, nicht aber mit denen des gesunden Blattes messen können, es also niemals auf den absoluten Wert des geförderten Wachstums — der, wenn wir andere Faktoren, Klima, Ernährung usw. heranziehen, auch bis zu einem gewissen Grade relativ sein wird, — ankommen kann.

<sup>53)</sup> Küster, E., Aufgaben und Ergebnisse der entwicklungsmechanischen Pflanzenanatomie. (Progress. rei botan. Vol. 2. 1908. p. 455.)



Die wichtigste Aufgabe ist es daher, in allen Fällen die Aktivitätszonen zu ermitteln, weil nur dadurch eine Erklärung des pathologischen Rollungsphänomens gefunden werden kann. Der einzige Forscher, der der Frage nach der Entstehung der Blattrollen, als entwicklungsmechanisches Problem, nahegetreten ist, Roll. Howard (40), beurteilt ebenfalls nur den relativen Wert des Gewebewachstums, wenn er seinen 4. Typus (*Enroulement par processus atrophique*) mit folgenden Worten beschreibt: „La partie interne de la feuille au contact avec les nombreux cécidozoaires qui vivent à sa surface, est frappé d'atrophie et contribue une zone de moindre résistance. La région externe qui reste à peu près normale et qui présente un épiderme très solide, constitue la zone active qui provoquera l'enroulement par en haut.“ Das hier gezeichnete Übergewicht geht also von einer Zone aus, die à peu près normale, noch zu den Hypoplasien gerechnet werden muß, und doch ist sie zugleich in bezug auf die Innenzone relativ schon hypertrophiert. Auf Roll. Howard's Arbeit, speziell auf die Frage, ob er durch seine Einteilung der Blattrollen das Phänomen prinzipiell hat erklären können, kommen wir noch zurück.

Der komplizierte Bau, namentlich der stark modifizierten Gallen, macht es notwendig, die einzelnen Fälle getrennt zu betrachten, und erst am Schlusse in einem theoretischen Schlußkapitel, das Wesen der Entwicklungsmechanik der Blattrollen prinzipiell zu erörtern. Ich werde mich in diesem Abschnitte überdies nicht auf die Blattlausgallen beschränken, sondern, soweit Arbeiten darüber vorliegen, auch andere Zooecidien, speziell aber die Thysanopterengallen heranziehen, um zu zeigen, daß dasselbe Bauprinzip überall vorherrscht, und tatsächlich eine einheitliche Beurteilung der Blätter in ihrer Reaktivität auf äußere Reize bestimmter Art möglich ist, daß die Tiere aber, weit entfernt, ihre Rolle zu unterschätzen, nur als selektionierendes Prinzip im Sinne einer Auswahl zwischen in der Pflanze latent vorhandenen Entwicklungsmöglichkeiten in Betracht kommen können.

Am Schlusse dieser einleitenden Sätze sei ein kurzer Überblick über die in der Literatur hauptsächlich bekannten Rollgallen gegeben.

Außer zahlreichen, in den einleitend erwähnten, allgemeinen Gallenwerken (C. Howard (37) [l. c.] u. a.) genannten, involutiven Aphidengallen sei hier eine bezügliche Galle auf *Hemigraphis confinis* genannt, deren Blätter nach oben völlig zu einer Röhre umgerollt sind. (J. und W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (15) [l. c.]), gefaltete Rübenblätter durch *Aphis papaveris* (A. Lécaillon (57) [l. c.]), nach oben gefaltete Fiederblättchen von *Pistacia atlantica* durch eine *Pemphigus* art (Schneider-Orelli (91) [l. c.]) usw.

Involutive Thysanopterengallen beschreibt A. Y. Grevillius (27) [l. c.], wobei die Tiere meist die obere, seltener die untere Epidermis angreifen. Der befallene Teil des Blattes bleibt im Wachstum zurück, und zwar an der Angriffsseite, also gewöhnlich an der Oberseite, stärker als an der entgegengesetzten Seite, Docters van Leeuwen-Rijnvaan (19), H. Karny (41), H. Karny und J. Docters van Leeuwen-Rijn-

<sup>40</sup>) Howard, Roll., Recherches anatomiques sur les cécidies foliaires marginales. (Marcellia. 1913. p. 124 ff.)

<sup>19</sup>) Docters van Leeuwen-Rijnvaan, J. u. W., Einige Gallen aus Java. 5. Beitr. (Marcellia. 1911. p. 65.)

<sup>41</sup>) Karny, H., Gallenbewohnende Thysanopteren aus Java. (Marcellia. 1912. p. 115.)

van (42) [l. c.] für eine große Zahl verschiedener Thripse; A. Y. Grevillius (26) [l. c.] p. 38 für eine Thysanoptere auf *Vicia cracca*; involutiv sind schließlich die, wenn auch schwachen, Rollen der *Protium javanicum* blätter infolge der Besiedelung durch Cocciden (J. und W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (19); schwache Rollungen an Mittelblättern beschreibt für Schildlausbefall Löw (61), u. a. m.

Revolutiv sind unter anderem die *Pemphigus-Riccobosii* Rollgalle auf *Pistacia atlantica* (Schneider-Orelli (91) [l. c.]), wohl auch die von H. Schmidt (82) [l. c.] beschriebene Blatt-

lausgalle auf *Crataegus oxyacantha*, schließlich eine Thripsidengalle auf *Eugenia polyantha* (J. und W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (15) [l. c.] u. a. m.

In der Richtung der Einfaltung oder Einrollung zum größten Teile nicht näher beschrieben sind zahlreiche Blattrollgallen, die durch Homopteren, Hemipteren, Thysanopteren und andere Insekten verursacht werden, so bei Vosseler (105) [Psyllide], J. und W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (20) [Thrypsiden, Rhynchothen, Aphiden], Schumacher (13) [l. c.] und Schmidt (89) [l. c.] [Wanzen], bei Löw (61) [Psylloden der Gattung *Trioxa*], Löw (62) [Rhinocola speciosa-Rollen auf *Populus nigra*], L. Geisenheyner (24) [l. c.] [Eriophyiden auf *Punica*, Aphiden auf *Chenopodium* und *Silene*], E. Rübsaamen (87) [Thysanopteren auf *Eugenia*, Psylliden auf *Eugenia*, *Fagara* usw.], E. Rübsaamen (88) [Psylliden auf *Solanum* usw.], J. und W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (14) [Psylliden], Abbé Pierre

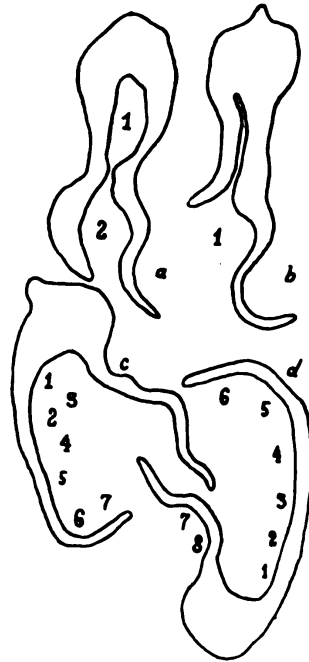


Fig. 11.

(75) [l. c.] [Cocciden], J. und W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (21) [Thripsiden], M. M. Molliard (68) [l. c.] [Phytotusgallen] usw. usw.

<sup>61)</sup> Löw, F., Mitteilungen über Psylloden. (Verhandl. d. zool.-botan. Ges. Wien. Bd. 29. 1879/80. p. 549.)

<sup>105)</sup> Vosseler, Eine Psyllide als Erzeugerin von Gallen am Mwulebaum. (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 2. 1906. p. 276, 305.)

<sup>20)</sup> Docters van Leeuwen-Rijnvaan, J. u. W., Einige Gallen aus Java. 6. Beitr. (Marcellia. 1912. p. 49.)

<sup>62)</sup> Löw, F., Beiträge zur Biologie und Synonymie der Psylloden. (Verhandl. d. zool.-botan. Ges. Wien. Bd. 31. 1881. p. 157.)

<sup>87)</sup> Rübsaamen, E. w., Beiträge zur Kenntnis außereuropäischer Zooecidien. (Marcellia. 1907. p. 110.)

<sup>88)</sup> Rübsaamen, E. w., Beiträge zur Kenntnis außereuropäischer Zooecidien. III. Beitrag. Gallen aus Peru und Brasilien. (Marcellia. 1908. p. 15.)

<sup>14)</sup> Docters van Leeuwen-Rijnvaan, J. u. W., Einige Gallen aus Java. II. Beitr. (Marcellia. 1909.)

<sup>21)</sup> Docters van Leeuwen-Rijnvaan, J. u. W., Kleinere cecidologische Mitteilungen. IV. Über die von *Gynaikothrips Karny* an *Piper sarmentosum* (Roxb.) (*P. Zollingerianum* Bl.) verursachte Blattgalle. (Marcellia. 1914. p. 127.)

### Die Prunus-Galle.

**Aktives Wachstum I. Fall.** Die Galle entsteht der Hauptsache nach durch Umklappung der beiden Blattspreitenhälften längs des Mittelnervs nach oben (Fig. 11).

Vergleichen wir die beiden Figuren 12a und 12b, so fällt am Gallenblatte sofort eine, wenn auch nicht absolute, so doch im Vergleiche zum Bündelsystem relativ bedeutende Vermehrung der Parenchymelemente des Mittelnervs auf, die in Form unregelmäßiger Wülste und Leisten wuchern und so tiefe Rinnen erzeugen, die dem normalen Blatte fehlen. (Vgl. auch Fig. 13). Gleichzeitig damit wird die dorsale Gewebe-Rinne, die sich zwischen die assimilatorischen Laminarpartieen einschleibt, völlig vernichtet, während der Übergang in die letzteren beim gesunden Blatte scharf angesetzt, beim Gallenblatte ein allmählicher ist, sowohl hinsichtlich der Dickenverhältnisse als auch der histologischen Differenzierung. Ähnliche Fälle sind für andere

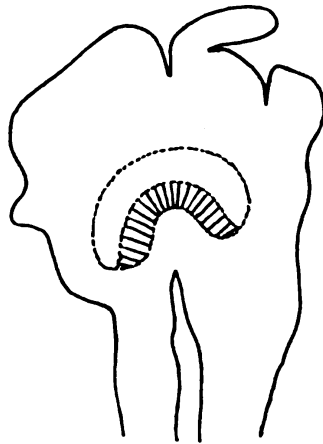


Fig. 12 a.

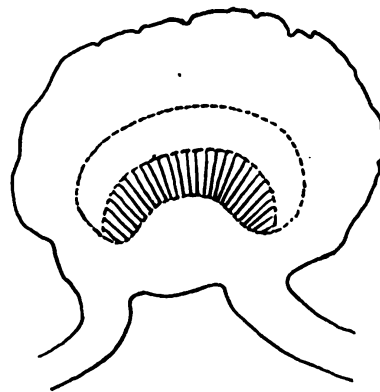


Fig. 12 b.

Gallen bekannt. So beschreiben H. Karny und Docters J. van Leeuwen-Rijnvaan (42) [l. c.] für *Piper Betle* eine Thripsidengalle (No. 77) mit nach oben geschlagenen Blattspreitenhälften, die dicht neben dem Hauptnerv stark verdickt sind. — Die im Querschnitte knieartige Umbiegung zur Ausbreitung der Lamina vom Mittelnerv weg zur normalen Lage fehlt der Galle; die beiden Spreitenhälften laufen parallel oder mit weiteren unregelmäßigen Buchtungen und Krümmungen (Fig. 11).

Die abnorme Gewebeerneuerung des ventralen Nervenparenchyms beruht auf Hypertrophie und Hyperplasie, wovon hauptsächlich die zwei bis drei hypodermalen Zellschichten am stärksten betroffen werden; die Wachstumsgeschwindigkeit ist hierbei außerordentlich unregelmäßig; nicht selten halten Epidermis und Hypodermis gleichen, hinsichtlich des tieferen Gewebes geförderten Schritt, so daß es zur lokalen Ablösung und faltigen Abhebung beider Zellschichten kommt. Eine interessante Parallele hierfür bringt E. Küster (51) [l. c.] für das *Erineum clandestinum* auf *Crataegus oxyacanthae*; hier wächst die Oberseitenepidermis so energisch in der Richtung der Blattfläche, daß sie sich samt den ihr anhaftenden Mesophyllzellen stellenweise von den tieferliegenden Gewebeschichten löst und dabei zahlreiche Mesophyllzellen unter so starke Zugwirkung bringt, daß diese zu „passivem Wachstum“ angeregt werden und zu Retorten-

zellen auswachsen. Ein solches passives Wachstum, das nach Küster (54) [l. c. p. 138] auch für die *Tetraneura ulmi*-Galle gilt, habe ich bei Aphidengallen im allgemeinen nur spärlich gefunden.

An anderen Punkten ist die Differenz in der Wachstumsgeschwindigkeit außerordentlich groß. Man sieht deutlich, daß sich hier, und zwar an den beiden hypodermalen Zonen, außerordentlich lebhaft antikline Zellteilungen eingeleitet haben, wobei die einzelnen Zellagen voneinander so sehr abweichen können, daß sie ihren gegenseitigen Zusammenhang verlieren und in gleitendes Wachstum übergehen, nicht unbeträchtliche Interzellularräume zwischen sich freilassend. Letztere sind großenteils die Folge davon, daß bestimmte, besonders geförderte Zellagen durch die lebhaften Teilungen

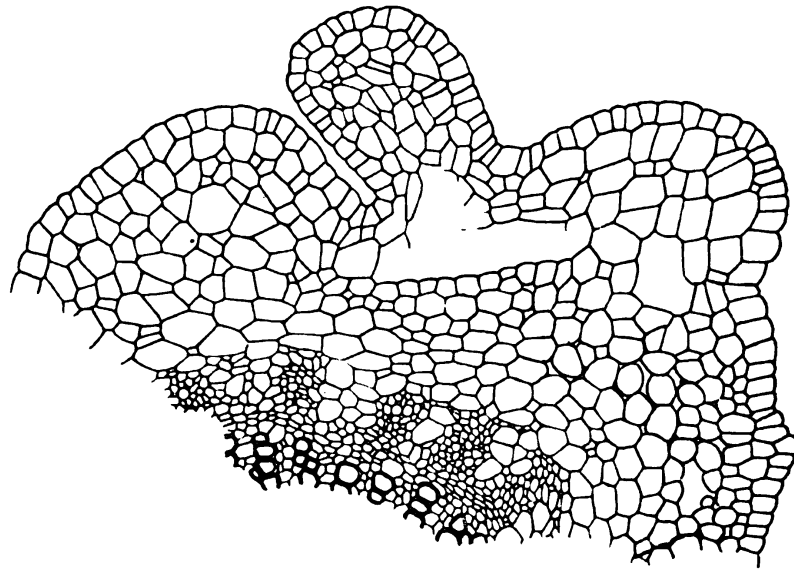


Fig. 13.

in ihrer Ebene nicht mehr Platz finden, aus derselben herausdrücken, und so ein Auseinanderweichen anderer Zellen bedingen. Dieses enorme, unregelmäßige Wachstum hat sich hauptsächlich mehr an den seitlichen Partien des Mittelnerven unweit der ansetzenden Blattspreite finden lassen. Das Gesamtergebnis der Hypoplasie (Fig. 13) ist ein wuchernder, völlig undifferenzierter, von einer einheitlichen, einschichtigen Epidermis überzogener Gewebekomplex, in dem große und kleine Zellen durcheinander liegen und in den auch die schon beschriebenen Riesenzellen am Grunde der tiefen Einbuchtungen eingeschaltet sind, sich aber nicht auf diese Punkte beschränken, sondern gelegentlich auch am Aufbau der breiten Parenchymleisten teilnehmen. Manche Zellteilungen erinnern lebhaft an Scheitelzellwachstum. Die Zellen dieser Gewebewucherungen erleiden schließlich, infolge der Geschwindigkeits- und Richtungsdivergenz der einzelnen Teilungen, passive Dehnungen und Zerreißen (Fig. 13), so daß innerhalb des Gewebes Hohlräume entstehen von unregelmäßiger Umgrenzung. Auf solche Zerreißen als Folge von sehr verschiedenen Spannungen weist auch Küster (54) [l. c. p. 187] hin. Interessant ist, worauf wir schon bei den Riesenzellen hingewiesen hatten, daß sich in solchen Fällen häufig sämtliche Zellen, die das tiefer liegende Gewebe gegen den Hohlraum zu abzuschließen haben, epithelial anordnen und so eine physiologische Innenepidermis schaffen, die in ihrer

Entstehung mit Dermatogen selbstverständlich nichts zu tun hat. Eine Regeneration der Epidermis, die im allgemeinen nach Kassner<sup>43)</sup> eine weitverbreitete Erscheinung ist, liegt hier natürlich nicht vor, weil ja die primäre Epidermis intakt geblieben ist, daher nicht ersetzt zu werden brauchte.

Die am stärksten wuchernden hypodermalen Zellagen enthalten in ihren Zellen große Zellsafträume, während in den noch tieferen Schichten der Zellsaft durch einige Vakuolen repräsentiert wird und Protoplasma reichlich vorhanden ist. Auch im prädestinierten Schwammparenchym tritt der Plasmareichtum zugunsten von Zellsaft zurück, während im allgemeinen die dorsalen Elemente (also an der Innenseite der Galle) plasmareicher sind und meristematischen Charakter länger beibehalten. Darauf, daß die Zellen beim

Bewegungswachstum nicht nur keine Zunahme an Plasma erfahren, sondern es während des Wachstums bis auf ein Minimum einbüßen, hat schon Küster<sup>54)</sup> [l. c.] p. 461 hingewiesen. Daß übrigens auch die dorsalen Zellen lokaler Wachstumsförderung unterliegen können, zeigt die Fig. 11, ferner die Bildung einer Art von Verschlusszellen, die wir im Anhang noch betrachten werden.

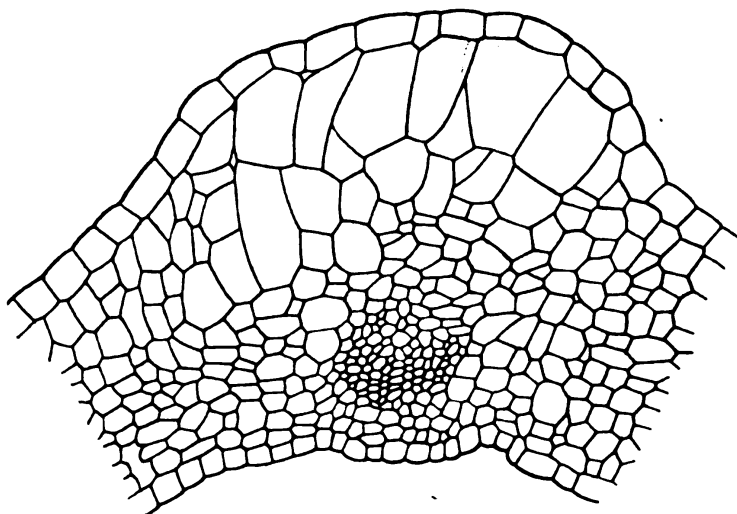


Fig. 14.

War die Ventralseite des Mittelnerven gefördert, so ist die Dorsalseite gehemmt. Der Mangel der breiten dorsalen Rinne kommt anatomisch im Bau der dortigen Epidermiszellen zum Ausdruck (Fig. 9 b). Diese schließen in außerordentlich spitzem Winkel zusammen, an dessen Scheitel und im anschließenden Raume etwa je fünf Zellen außerordentlich klein sind und erst die folgenden allmählich größer werden, bis schließlich in einer gewissen Entfernung die normale Zellgröße erreicht wird. Zu dieser lokalen Hemmung kommt in den anschließenden, vollständig destruierten Spreitenteilen das Fehlen eines einheitlichen Palisadengewebes; die beiden Spreitenhälften erscheinen demnach unter dem mit günstigen Angriffspunkten ausgestatteten Drucke des ventralen Nervenparenchyms nach oben geschlagen. Nach C. Howard<sup>35)</sup> kennzeichnet auch eine Dipterengalle die Tatsache, daß „l'hypertrophie le plus considérable des tissus se produit à la face inférieure de la nervure médiane“.

<sup>43)</sup> Kassner, P., Untersuchungen über Regeneration der Epidermis. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 20. 1910. p. 193.)

<sup>35)</sup> Howard, C., Sur une diptéroécidie nouvelle du *Dahpne laureola*. (Marcellia. 1905. p. 59.)

II. Fall. Die Blattrandrollung entsteht durch eine wiederholte, dütenförmige Aufrollung der Spreite vom Rand her nach oben, so zwar, daß, wie wir schon mit freiem Auge sehen, die Umbildung vornehmlich an den größeren Nerven erfolgt. Durchschneiden wir einen solchen Nerv (Fig. 14): das ganze Gewebe des Blattes setzt sich aus einem undifferenzierten, nur an der Ventralseite größerzelligen Gewebe zusammen, auch das Gefäßbündel ist in seiner Entwicklung stark zurück. Die Zone aber, die dem normalen ventralen Nervenparenchym entsprechen würde, besteht aus riesigen, großen Zellen, die mehr oder weniger allmählich in das kleinzellige Nachbargewebe übergehen. Dieser Strang kolossal hypertrophierter Zellen ist offenbar das Aktivitätszentrum, das die Umbiegung der Blattspreite um etwa  $90^\circ$  bedingt. Diese turgeszenten Zellen bilden samt und sonders das Bewegungsgewebe; ihre Angriffspunkte liegen beiderseits des Gefäßbündels an der Ventralseite; ein fester, resistenter Gewebemantel an der Oberseite existiert nicht, der dem Drucke dieser ventralen Aktivitätszone erfolgreich Widerstand leisten könnte.

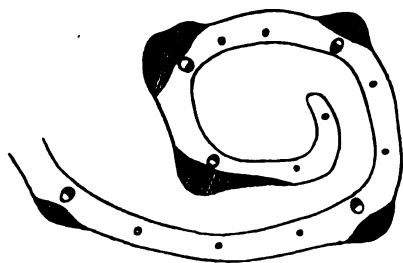


Fig. 15.

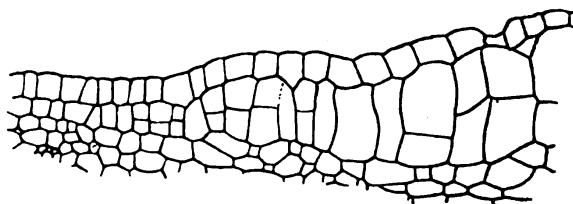


Fig. 16.

Und betrachten wir eine ganze Rolle (Fig. 15), so sehen wir mit außerordentlicher Regelmäßigkeit diese hypertrophierten Zellzonen die ganze Ventralseite der größeren Nerven einnehmen, wobei sie von den Bündeln weg rasch schmaler werden und stellenweise sich bis in größerer Entfernung vom Gefäßbündel verfolgen lassen. Das Bild läßt ferner den Schluß zu, je größer der Komplex aktiver Zellen, um so energischer die Einrollung und um so kleiner der Winkel, in dem je zwei Laminarpartien in diesen Nerven zusammenlaufen. Das äußerste Bündel hatte eine ganz schmale Zone aktiver Zellen, die beiden letzten die mächtigsten, und diese sind auch die Biegungsstellen für die stärkste Krümmung, die beim äußersten Bündel noch recht schwach war. In diesem Verhalten müssen wir auch einen Beweis dafür erblicken, daß dieses veränderte ventrale Nervenparenchym tatsächlich das aktive, die Rollung bedingende Bewegungsgewebe darstellt.

Da die bezüglichen Zellen (Fig. 14) ziemlich unregelmäßig liegen und nicht erkennen lassen, welche Parenchymlage, ob eine oder mehrere an der Ventralseite durch Veränderung ihrer Elemente den Aufbau der ganzen aktiven Zellmasse besorgen, müssen wir nach weiteren Bildern suchen, und da fanden sich solche, die in ungemein klarer Weise zeigen, daß es in erster Linie, wenn nicht vielleicht überhaupt ausschließlich, die Hypodermis, die an die Epidermis anschließende Zellage, ist (Fig. 16), deren Zellen sich in größerer Entfernung vom Nerven zunächst in nichts unterscheiden, schließlich aber nervopetal höher werden, eine Teilung durch eine perikline Wand erfahren und gleichzeitig unmittelbar über dem Gefäßbündel so sehr hypertrophieren, daß die Derivate dieser Hypodermis schließlich fast die Hälfte des ganzen Querschnittes einnehmen können. Mögen auch an anderen Punkten

sich sekundär noch tiefer liegende Zellschichten beteiligen, das primär und hauptsächlich wachstumsfähige Gewebe ist die Hypodermis. Ich spreche von Hypodermis topographisch und ganz allgemein, weil wir gar kein Recht mehr haben, an so stark modifizierten Geweben Termini zu gebrauchen, die zwar vom normalen Blattbau her geläufig, in der Galle aber, die einen Komplex primär physiologisch gleichwertiger Zellen darstellt, unverständlich sind.

**P a s s i v e V e r ä n d e r u n g e n .** Von den Aktivitätszonen als dynamischen Zentren ausgehend, müssen wir offenbar Kräfte annehmen, deren Resultierende schließlich schräg nach oben auf die ansetzenden Laminarteile wirkt, als Druck, der hauptsächlich an der Ventralseite fühlbar wird und die Ausbreitung der Blattspreite in der Fläche verhindert, oder eine schon erfolgte Entfaltung nachträglich aufhebt. Eine ziemlich eingehende Betrachtung dieser Kraftverhältnisse verdanken wir R. H o u a r d (40) [l. c.]: „La force que développe l'hypertrophie de chacune des cellules agirait dans tous les sens si celles-ci étaient libres. Mais cette force est annulée vers la région normale qui reste stable. Elle l'est également vers la région inférieure par la résistance de l'épiderme externe hypertrophié. Elle subsiste, au contraire, vers la partie supérieure du limbe, où le tissu palissadique, arrêté dans son développement, oppose moins de résistance. Elle subsiste également vers l'extrémité du limbe qui résiste moins à cette action que la feuille normale. Schématiquement, l'hypertrophie des tissus se traduira par une force, dirigée vers le bord du limbe; la résultante aura donc une direction oblique vers l'extrémité du limbe qui s'incurvera vers le haut. Le phénomène s'accroissant, chaque déjà différenciée servant de point d'appui, l'enroulement se constitue.”

Mag nun auch die Summenwirkung der zahllosen Kräfte, die die turgeszenten Zellen entfalten, schließlich hauptsächlich die Lamina treffen, so müssen doch rasche Entwicklung und Platzmangel im Innern des Gewebes (ich habe dabei Fig. 13 im Auge) Partialkräfte und deren Komponenten schaffen, die radiär zum Gefäßbündel wirken. Die selbst in lebhafter Teilung begriffenen äußeren Schichten mitsamt der Epidermis können jedoch dem Drucke des wuchernden inneren Gewebes bis zu einem gewissen Grade nachgeben; anders liegt das bei den tieferliegenden Schichten und Zellen in der unmittelbaren Umgebung des Leptoms\*).

Dieser Innendruck kann nun so stark werden, daß er nicht nur Entwicklungshemmungen im Wachstum befindlicher Zellen zur Folge hat, wie das z. B. für die dorsale Seite des Mittelnervs die Epidermiszellen (Fig. 9 b) am deutlichsten zeigen, sondern daß auch im wesentlichen schon entwickelte, in ihrer Form vollendete Zellen unter seinem Einfluße zerdrückt werden. In Fig. 13 (im Bilde konnte das der Kleinheit halber nicht festgehalten werden) sieht man schon bei schwächerer Vergrößerung, daß am Mittelnerv in der äußeren Zirkumferenz des Gefäßbündels die unmittelbar anschließenden Zellen verworrene Konturen haben und stärker gefärbt erscheinen. Die intensive Färbbarkeit trifft komprimierte, offenbar getötete Plasmateile, wahrscheinlich im Zusammenhang damit auch Gerbstoffansammlungen, die Zellwände aber sind aus ihrer ursprünglichen Lage gedrängt (Fig. 17). Vor allem erscheinen die Radialwände geknickt und in Falten gelegt, so daß die ur-

\*) Die in Fig. 13 gezeigte epitheliale Anordnung innerer Zellen dürfen wir im Sinne einer Verminderung des Innendruckes schon deshalb nicht überschätzen, weil sie nur gelegentlich auftritt.

sprüngliche Gestalt vieler Zellen kaum mehr kenntlich ist. Die Art der Verkrümmung läßt den Schluß zu, daß hier hauptsächlich radiär zum Gefäßbündel gerichtete Kräfte gewirkt haben, aber auch solche, die als Teilresultierende der in den seitlichen Gewebewucherungen sitzenden Kräfte die Umgebung des Gefäßbündels hauptsächlich von der Seite her getroffen haben.

Die Lage des in Mitleidenschaft gezogenen Gewebes ist hier überdies eine sehr ungünstige. Abgesehen davon, daß sie, weil am tiefsten liegend, am aktiven Wachstum nicht mehr beteiligt waren, sind ihre Wände außerordentlich dünn und dann konnten diese Zellen, einem konzentrischen Druck ausgesetzt, nach keiner Seite mehr ausweichen, denn an sie schließen sich unmittelbar die Cribralprimanen, denen die Dicke der Wände bedeutende Festigkeit verleiht. Sonach stehen die betroffenen Zellen unter allseitigem Drucke, einem aktiven der wachsenden Zellen, einem passiven des Widerstand leistenden Leptoms; sie erscheinen förmlich „an die Wand gedrückt“.

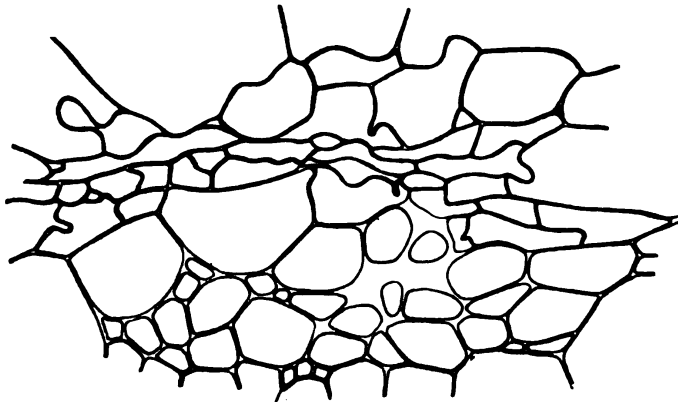


Fig. 17.

Diejenigen Kräfte und Komponenten, die sich durch solche Leistungen nicht schon aufheben und erschöpfen, liefern, wie oben gesagt, beiderseits eine Hauptresultierende, jederseits von unten schräg nach oben gerichtet, die mit der Umklappung der beiden Spreitenhälften nach oben zugleich einerseits eine Entwicklungshemmung der dorsalen Gewebe, andererseits

auch deutliche, wenngleich weniger ausgedehnte, Zerdrückungen von Zellen, die dorsal des Gefäßbündels in der Symmetrieebene des Blattes liegen, zur Folge haben.

Daß die kleineren Bündel, die im 2. Falle die Träger des Bewegungsgewebes gewesen waren, keine solchen passiven Veränderungen und Störungen zeigen, hat seinen Grund offenbar darin, daß dort der Krümmungswinkel höchstens  $90^\circ$  beträgt, hier aber fast den doppelten Betrag erreicht, und dann wohl auch darin, daß, wie ein Vergleich der Fig. 13 und 14 lehrt, das gesamte Gewebe dort jünger war, noch mehr meristematischen Charakter zeigte, während hier wenigstens das Gefäßbündel bereits entwickelt war.

#### Die Fraxinus-Galle.

Im Grade der Vergallung steht diese Galle der Prunusgalle zweifellos am nächsten. Die Krümmung und Rollung erfolgt hier jedoch, im Gegensatze zur Prunusgalle, revolutiv; wir werden demnach den Sitz des Bewegungsgewebes an der Oberseite zu suchen haben.

**Aktives Wachstum.** Wie schon in der deskriptiven Anatomie angedeutet, treten hier im Verlaufe der ganzen Oberseite außerordentlich große, mächtig hypertrophierte Zellen auf, die einen einheitlichen, geschlossenen Mantel darstellen (Fig. 18). Neben den Epidermiszellen, die gewiß auch bedeutend hypertrophieren, sind es vor allem die Zellen der Hypodermis,



die enorme Dimensionen annehmen, während ihre Wände zart und dünn bleiben. Hyperplasie spielt neben Hypertrophie eine bescheidene Rolle. Die Volumsvergrößerung der Hypodermis geht so weit, daß ihre Höhe mehr als die Hälfte der ganzen Querschnittsbreite, zusammen mit der Epidermis bis zu zwei Drittel derselben, erreichen kann. Die Fig. 18 zeigt zugleich aufs deutlichste den Effekt dieses Wachstums für einen Teil der ganzen Rolle. Der einheitliche, dorsale, aktive Gewebemantel läuft in mächtiger Entwicklung und unabhängig von der Lage der Blattnerven ununterbrochen über die ganze Spreite und drückt überall energisch die ventralen Elemente zurück, so daß die Einrollung des Blattes nach unten gegeben ist. Mag auch die Rolle

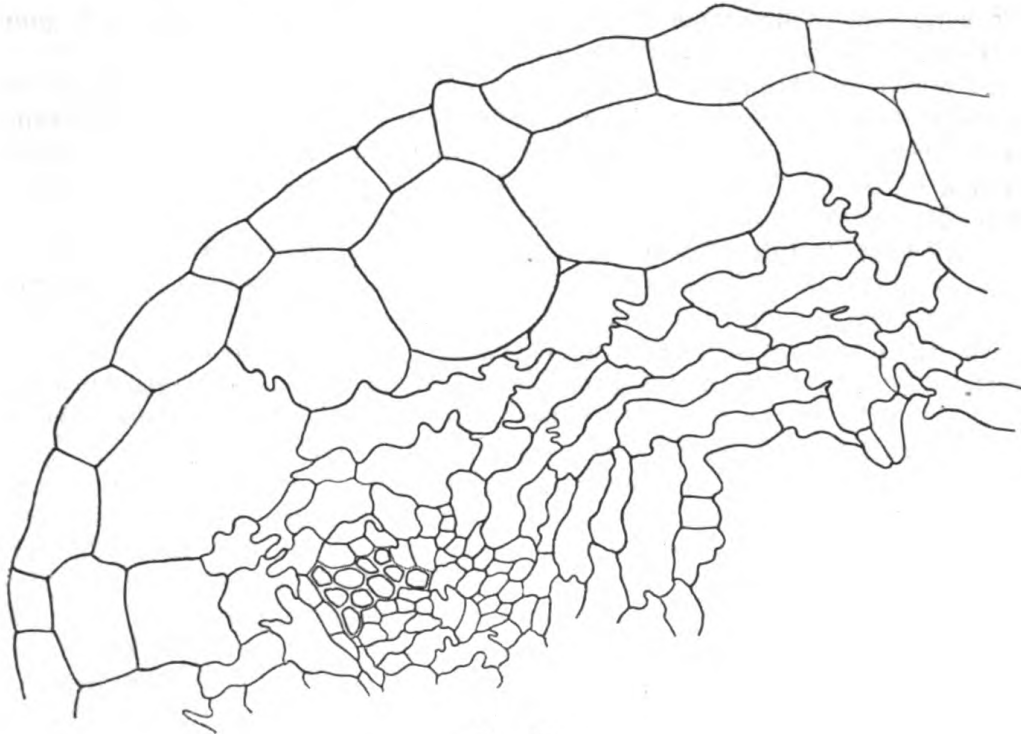


Fig. 18.

der Epidermis bei der Einrollung nicht unterschätzt sein, der Sitz der hauptsächlichsten Aktivität liegt zweifellos in der Hypodermis. Unter den Thysanopterengallen kommt die Rolle einer solchen dorsalen Hypodermis besonders an den *Vitis lanceolariagallen*, durch *Gynaikothrips viticola* verursacht, klar zum Ausdruck. Nach H. Karny und J. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (42) [l. c.] erfährt das Palisadengewebe, das im normalen Blatte aus einer Lage von fast isodiametrischen Zellen besteht, die sich nur durch ihre Größe und regelmäßige Lagerung von den Schwammparenchymzellen unterscheiden, durch eine oder zwei Querteilungen parallel zur Blattoberfläche eine bedeutende Vermehrung, während die Epidermiszellen sich nicht teilen. Was bei der *Fraxinusgalle* also durch Hypertrophie erreicht wurde, ist hier die Folge bedeutender Hyperplasie. In beiden Fällen aber konzentrieren sich die Veränderungen auf die Hypodermis, die somit zum aktiven Bewegungsgewebe gestempelt wird.

Betrachten wir noch den für die Entstehung dieses Gewebes interessanten Übergang des normalen in das pathologische Gewebe. Je nach dem Grade

des Gallenreizes (als Kombination von Aktivität und Reaktivität, durch eine Reihe von Faktoren bedingt, vgl. das letzte Hauptkapitel!) verschieden schnell, gehen zunächst die Palisadenzellen ein Wachstum in die Breite ein, ohne ihre ursprüngliche Höhe wesentlich zu ändern, während die Epidermiszellen auch zuerst in die Breite und erst allmählich, wenn das übrige Gewebe schon stärker verändert ist, auch in die Höhe wachsen. Schließlich gewinnen die Palisadenzellen die charakteristische Gestalt. Fast gleichzeitig unterliegt auch die Ventralseite, wenn auch schwächer, einer Hypertrophie. Die Interzellularen des Schwammparenchyms werden immer seltener; letzteres erfährt ebenfalls eine bedeutende Zellenvergrößerung, bildet aber nie einen so geschlossenen Gewebemantel wie das aktive Gewebe der Dorsalseite. Schließlich wird sein Widerstand durch das dorsale Übergewicht gebrochen und es treten Veränderungen auf, die wir als

Passive Veränderungen denen bei *Prunus* völlig an die Seite stellen dürfen, ja als ein Extrem der dort gemachten Beobachtungen bezeichnen werden. Die Zerdrückung und Zerknitterung von Zellwänden ist für die Ventralseite eine vollständige geworden; Epidermiszellen, sowie alle Elemente des ehemaligen Schwammparenchyms (Fig. 18), wie auch schließlich ein Teil der Zellen des Gefäßbündels, haben wiederholt in Falten, sogar in überkippte Falten gelegte und verschobene Zellwände, so daß das ursprüngliche Zellengefüge stellenweise vollkommen verschoben und die Zellen selbst, wie wir annehmen dürfen, zum Teile getötet sind. Die Epidermiszellen sind stellenweise aus ihrer Ebene herausgehoben und ragen buckelig vor. Ähnliche Zerknitterungen, aber in sehr bescheidenem Maße, finden sich gelegentlich auch an den turgeszenten Zellen der Hypodermis.

Die Ursache für diese passiven Veränderungen liegt einerseits in der die Einrollung bedingenden, radiotangential wirkenden Kräfte resultierenden, die durch die eingetretene Krümmung der Spreite den Raum für die Entwicklung der in den Krümmungswinkel fallenden Zellen vermindert und diese in perikliner Richtung zusammendrückt; andererseits, und ich möchte sagen: überwiegend, in der übermächtigen Entfaltung der Zellen, die jede für sich gleichzeitig einen enormen Druck auf die ventralen Gewebe ausüben und diese auch in antikliner Richtung zusammendrücken, so daß tatsächlich alle Wände zerdrückt und verknittert erscheinen. Der deutlichste Beweis für die Richtigkeit dieser Argumentation liegt darin, daß gerade die unmittelbar an die Hypodermis anschließenden Zellen, die einem solchen Drucke offenbar am stärksten ausgeliefert sind, die weitestgehende Faltenlegung der antiklinen Wände aufweist. Zur Annahme einer solchen Doppelwirkung von Kräften auf das ventrale Gewebe sind wir gezwungen, um den ganzen Erscheinungskomplex erklären zu können, und auch deshalb, weil die Kraftwirkung so großer Zellen durch die stellenweise nicht einmal so bedeutende Einrollung der Spreite nicht erschöpft sein kann. Wir kommen übrigens bald auf ein weiteres Beweiskrumm dafür, daß die einzelnen Hypodermiszellen direkt dorso-ventral gewirkt haben, zurück. Wenn, wie sich, wie gesagt, selten beobachten läßt, auch die turgeszenten Zellen der Dorsalseite kleine Verknitterungen zeigen, so ist das lediglich eine Folge des Gegendruckes, den das ventrale Gewebe für die Oberseite bedeutet, und gleichzeitig ein Zeichen lebhaften Kampfes beider Blattzonen um denselben Platz. Ein solcher Gegendruck kann nur senkrecht zur Blattebene wirken, also nur zur Verknitterung antikliner Wände führen, wie die anatomischen Bilder aufs schönste bestätigen.

Die Galle der *Aphis oxyacanthae*.

Da diese Galle, gleich der vorigen, revolutiv ist, liegt es nahe, gleiche Bauprinzipien zu erwarten und auch hier die dorsalen Elemente, vor allem das Palisadengewebe, eventuell in Verbindung mit der Epidermis, als eigentliches Bewegungsgewebe zu vermuten. Aus der Anatomie wissen wir bereits, daß die Vergallung einen Komplex gleichförmiger Zellen schafft, die sich indessen — und das ist sehr wichtig — hinsichtlich ihrer Größe keineswegs gleich verhalten. Fig. 6 zeigt uns, daß erstens die dorsalen Mesophyllzellen bedeutend größer sind, als die ventralen, und daß unter den dorsalen es wiederum in erster Linie die Hypodermis ist, die einen vollständig geschlossenen, einheitlichen, durch keine Interzellulargänge unterbrochenen Mantel darstellen, während die Epidermiszellen kaum oder wenig in Mitleidenschaft gezogen worden sind. Diese Hypodermis zieht sich wie ein roter Faden durch das ganze Blatt, freilich mit manchen gestaltlichen Veränderungen, aber als solche stets deutlich erkennbar; daß die anatomische Konstruktion im Verlaufe der Galle wechsellvoll ist, wissen wir bereits. Für unsere Betrachtung aber gewinnt die Fig. 19 eine ganz andere, wesentlichere Bedeutung. Es handelt sich hier keineswegs um eine zufällige Hypertrophie der ersten Schicht des Palisadengewebes, sondern eben darum, daß diese Schicht als Hypodermis, als die unter der Hypodermis liegende Zellschichte, auf den Gallen offenbar viel reaktiver ist und sich zum aktiven Bewegungsgewebe umbildet zu einer Zeit und an einem Orte, wo tiefer liegende Schichten und die Epidermis noch eine weite Strecke ihr normales Aussehen beibehalten und erst später durch analoge Veränderungen die Hypodermis in ihrer nunmehrigen Hauptfunktion unterstützen.

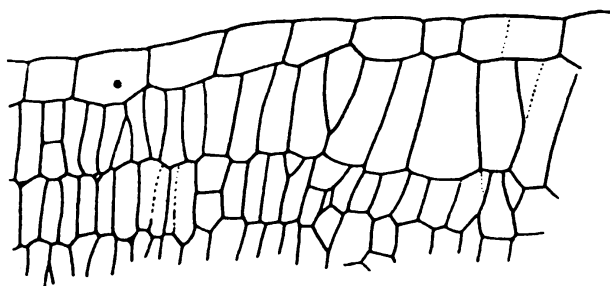


Fig. 19.

Auf zwei Eigentümlichkeiten sei hier noch hingewiesen: Es fiel mir auf, daß außer dem Mittelnerv der eine oder andere Seitennerv in der einheitlichen Einrollung der ganzen Blattspreite in demselben Sinne eine Unterbrechung bedeutet, indem solche Nerven zurückgezogen erscheinen, so daß zu beiden Seiten derselben die Krümmung eine um so stärkere war. Den ganzen Komplex der Ursachen können wir erst nach Betrachtung der *Prociphilus*-galle auf *Lonicera* verstehen, auf das eine sei aber schon hier hingewiesen, daß die Hypodermis als ein Derivat des Palisadengewebes über den größeren Nerven entweder eine Unterbrechung erfährt, oder doch häufig nicht so vollkommen von den dorsalen Nervenparenchymzellen ersetzt wird. Überall aber, wo die Gefäßbündel kleiner sind und schon in der normalen Anatomie über sie ein einheitliches Palisadengewebe hinwegläuft oder sich die Bündel infolge des Vergallungsprozesses nicht vollkommen entwickelten und meristematischen Charakter zeigen (Fig. 6), und in etlichen Fällen auch bei großen Bündeln und Nerven, bedeuten die letzteren im Verlaufe der einheitlichen Einrollung des Blattes keine Störung; es konnte sich das dorsale, aktive Bewegungsgewebe ungehindert durchsetzen.

Zweitens wird es auffallen, daß ich bei den beiden ersten Gallen zwischen aktivem Wachstum und passiven Veränderungen unterschieden habe, hier aber nicht. Es haben sich letztere tatsächlich auch gar nicht beobachten lassen. Der Grund hierfür scheint mir nicht schwer auffindbar. Einmal, verglichen mit der *Fraxinus*-galle, ist hier die Überentwicklung viel bescheidener als dort, so daß die Partialdruckkräfte jeder der dortigen „Riesenzellen“ hier nicht in Betracht kommen können, vielmehr haben wir ein einheitliches, durch Hypertrophie, hauptsächlich aber durch Hyperplasie, entstandenes Gewebe, dessen einzelne Zellen untereinander und von den ventralen Elementen lange nicht in dem Maße differieren wie bei der *Fraxinus*-galle. Wenn stellenweise eine ähnliche Dicke erreicht würde, wie bei der interessanten *Prunus*-galle (Fig. 6 links), so läßt sich doch die Krümmungsintensität niemals vergleichen etwa mit dem I. Typus der

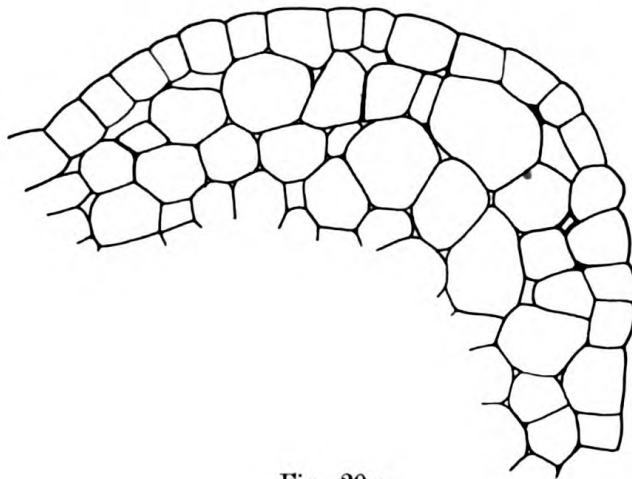


Fig. 20 a.



Fig. 20 b.

*Prunus*-galle; das Ganze entspricht vielmehr, freilich in umgekehrter Krümmungsrichtung, etwa dem II. Typus der *Prunus*-galle, die bekanntlich auch keine passiven Veränderungen aufgewiesen hatte. Das Fehlen der abnormen Zellwandverbiegungen und Verkrümmungen der *Aphis-oxycantha*-galle beweist überdies nachträglich, daß wir bei der *Fraxinus*-galle außer der Tatsache, daß bei der Krümmung das hypertrophierte Ventralgewebe dem noch stärker hypertrophierten dorsalen einen Widerstand geleistet hatte, die Hauptschuld an den lebhaften Verknitterungen, namentlich der antiklinen Wände, in dem Partialdruck jeder einzelnen Hypodermiszelle in der Richtung zur Ventralseite zu suchen haben.

Eine Parallele zu dem für die *Aphis-oxycantha*-galle bekannten Vorwiegen des Auftretens von rotem Farbstoff in den dorsalen Zellen bietet eine Psyllidengalle auf *Cinnamomum*. J. und W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (14) [l. c.].

#### Die Aphidengalle auf *Lonicera*.

Sehen wir in Fig. 29 von den dort eingezeichneten Stichen ab und behalten wir nur die Krümmungsverhältnisse im Auge, so zeigt sich eine nicht zu verkennende Übereinstimmung mit der *Prunus*-galle, obwohl der Grad der Vergallung hier ein viel geringerer ist als dort. Das ganze Blatt ist, ähn-

lich wie bei *Prunus*, längs bestimmter Nerven gleichsinniger wiederholt umgeschlagen, so daß ein sehr weiter Hohlraum entsteht. Dazwischen liegende, größere Nerven nehmen an diesen Biegungen nur bescheidenen Anteil. Die zwischen den Seitennerven liegenden, nur ganz kleine Bündel einschließenden Spreitenteile verlaufen in den meisten Fällen normal und sind selten nach der Oberseite [B und C], zuweilen ein wenig nach der Unterseite hin [A, D] schwach gekrümmt. Da der anatomische Bau der nervenlosen Blattspreite gar keine Anhaltspunkte gibt, das Palisadengewebe, namentlich an Höhe, hinter dem normalen zurückbleibt, andererseits aber auch die Ventralseite eine Vereinfachung zeigt, müssen wir das Bewegungsgewebe wohl in den stärkeren Blattnerven, längs deren Umbiegungen eingetreten sind, suchen.

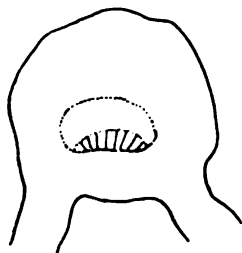


Fig. 21 a.

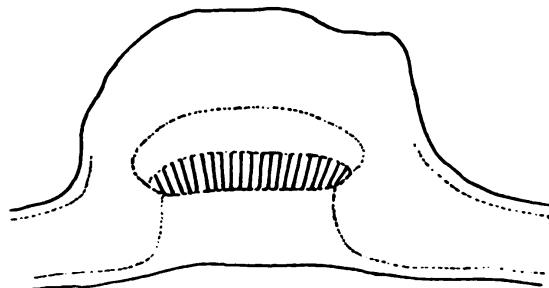


Fig. 21 b.

Fig. 21 a, b zeigt einen infizierten, bzw. normalen Mittelnerv des *Lonicera* blattes.

Außer der bedeutenden Reduktion im Gefäßbündelbau und der viel schwächeren anschließenden Blattspreite, fällt auf den ersten Blick auf, daß der ganze Nerv in der Breite beinahe die Hälfte, in der Höhe nur etwa ein Viertel seiner normalen Dimensionen eingebüßt hat. Trotzdem ist im kranken Blatte die Höhe des ventralen Nervenparenchyms unterhalb des Bündels kaum geringer, die Masse desselben zu beiden Seiten des Gefäßbündels eher größer und reichlicher geworden. Hat also das ventrale Nervenparenchym absolut nur so viel eingebüßt, als der geringeren Breitenausdehnung des Bündels entspricht, so hat es tatsächlich relativ ein bedeutendes Übergewicht gewonnen, das sich hauptsächlich zu beiden Seiten des Gefäßbündels betätigt und die schwache, von der Dorsalseite her kaum resistente Blattspreite in ganz ähnlicher Weise nach oben drückt, wie das bei *Prunus* zu beobachten gewesen war. Einen Beweis für die Richtigkeit der Auffassung, daß wir gerade an der Ventralseite der Nerven die aktive Zone zu suchen haben, werde ich später bringen.

In anatomischer Hinsicht ist ein Vergleich der beiden Figuren 20a und 20b wertvoll und lehrreich. Die Epidermiszellen des infizierten Nerven zeigen manche Unregelmäßigkeiten und sind stellenweise größer als normal. Die Wandverdickungen, die die ganze Ventralseite zu einem wuchtigen Collenchym umwandeln, fehlen in der Galle vollständig, anstatt dessen schalten sich kleinere und größere Interzellulargänge ein. Das Wesentliche ist aber, daß sich im gesunden Blatte an die Epidermis zunächst kleinere Zellen des Parenchyms ansetzen und erst in größerer Entfernung von ihr große Zellen folgen, die dann schon nahe dem Gefäßbündel liegen, während im kranken Blatte die größten Zellen unmittelbar auf die Epidermis folgen, und so einen

ein- bis zweischichtigen, hypodermalen Mantel größerer, turgeszenter Zellen schaffen, während kleinere Zellen erst gegen das Gefäßbündel zu folgen. Mit anderen Worten: Die Hypodermis besteht im kranken Blatte aus größeren Zellen als im gesunden. Es mag das für die Krümmung keineswegs gleichgültig sein, denn turgeszente Zellen, die mit den ventralen Elementen der Spreite in einer Linie liegen, können als Bewegungsgewebe viel eher in Betracht kommen, als solche, deren Lage für die zu betätigende Kraft unbedingt ungünstiger ist, ungünstigere Angriffspunkte liefert.

Trotz des Mangels an anatomischen Untersuchungen, möchte ich doch als wertvollen Beweis für die Rolle des ventralen Nervenparenchyms hier die von J. und W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (14) [l. c.] auf *Melastoma polyanthum* beschriebene Thripsidengalle anführen, bei welcher die erste Umbiegung des Blattes an einem größeren Seitennerv erfolgt und der umgeschlagene Blatteil noch einmal umgebogen wird, und zwar gerade bei dem dünneren Nerv, der dicht neben dem Blattrande verläuft. Die von den Verfassern beigegebene Skizze zeigt aufs klarste, daß hier lediglich die Blattnerven Träger des Bewegungsgewebes gewesen sein konnten.

Anatomische Untersuchungen liegen für involutive Rollgallen von Erregern verschiedener Insektengruppen vor. Roll. Howard (40) [l. c.] nimmt die Hypertrophie des ventralen Gewebes des Blattmesophylls für die *Eriophyes tetranichus* (Nal.)-Galle auf *Tilia silvestris* in Anspruch, deren Zellen „perdent leur contour sinueux, s'arrondissent ou bien comprimés les uns contre les autres acquièrent une forme allongée suivant le rayon du courbure de l'enroulement.“ Die Epidermis der Unterseite „présente des cellules à grande section, surtout dans la région terminale de la galle.“ Im Gegensatz zu dieser ventralen Hypertrophie, bleiben die Epidermiszellen der Oberseite, wo die Tiere damit in Berührung stehen, in ihrer Entwicklung gehemmt. Die *Perrisia tilia mvolv*-*ens* galle, die ebenfalls nach oben die Rollung zeigt, läßt überdies starke Hypertrophie der Palisadenschichte erkennen, deren Zellen zwei- bis dreimal so breit, als im normalen Gewebe sind.

Diese, wie noch zu erwähnende Untersuchungen legen jedoch auf eine prinzipielle Unterscheidung zwischen Blattmesophyll und Nervenparenchym kein Gewicht; es wird lediglich immer von einer Zellenvermehrung oder Zellenvergrößerung der Blattunterseite gesprochen, wo involutive Gallen vorgelegen waren. Mit der erwähnten *tilia mvolv*-*ens* galle teilt die von H. Karny und J. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (42) [l. c.] beschriebene *Gynaikothrips chavicae*-Galle auf *Piper retrofractum* die auf das ganze Blatt ausgedehnte Hypertrophie, freilich gradueller Verschiedenheit. „Die Epidermis und Subepidermis der Oberseite (also Innenseite der Galle) sind großzellig geworden. Merkwürdigerweise zeigen aber die Zellen der unteren Epidermis, also die Außenseite der Galle die stärksten Veränderungen. Die Zellen der Subepidermis sind nicht nur unregelmäßig sondern auch viel größer geworden. Die Lufträume sind viel größer geworden, so daß die Epidermiszellen, welche in allen Richtungen ungefähr um das dreifache vergrößert sind, nach außen gehoben werden.“ Im Wesentlichen lassen sich solche Bilder mit der *Fraxinus* galle in der Übergangszone vom normalen Blatt zur Galle vergleichen, und mit verschiedenen Punkten der *Aphis oxycantha* galle, nur daß die Lage umgekehrt ist, die Zonen der überwiegenden Hypertrophie bzw. Hyperplasie in beiden Fällen entgegengesetzt liegen.

Weitere allgemeine Angaben für Aphiden- und andere Gallen verdanken wir Diels (12) [l. c.] [Hemmung der Oberseite in Epidermis und Palisadengewebe, normale Entwicklung der Unterseite], Abbé Pierre (75) [l. c.] (für Cocciden an Stengeln), H. Karny und J. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (42) [l. c.] [für *Cryptothrips fuscipennis* auf *Spatholobus litoralis* und *Fagraea litoralis*; in diesen Fällen liegen involutive Gallen vor, deren Außen-Unterseite größere Zellen besitzt], schließlich Zimmermann (108) [für eine Physopodengalle auf *Ficus*; nach der Unterseite des Blattes zu geht das an Stelle des Palisadengewebes auftretende kleinzellige, chlorophyllarme, teilweise intensiv rotgefärbte Gewebe in größerzelliges über].

Genauere Untersuchungen, namentlich über die Zellteilungen am ursprünglichen Schwammparenchym, dem die Rolle eines aktiven Gewebes zukommt, verdanken wir J. und W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (21) [l. c.], ohne daß die Verfasser allerdings die aus dem anatomischen Bau sich ergebenden physiologischen Schlüsse für das Wesen der Rollung gezogen hatten, und ohne daß ihrerseits eine besondere Berücksichtigung der bezüglichen Verhältnisse an den Gefäßbündeln vorliegen würde, so daß wir über die letzteren, speziell über ein ventrales Nervenparenchym, vorläufig nichts wissen. Über den vermutlichen Zusammenhang mit meinen Untersuchungen verweise ich auf das Kapitel: Entwicklungsmechanik der Blattrollen. Die Beobachtungen an der *Gynaikothrips pallipes* auf *Piper sarmentosum* sind mindestens für uns deshalb von Interesse, weil sie zeigen, daß auch hier als das entwicklungs- und wachstumfähigste Gewebe eine hypodermale Zellenzone gilt; während nämlich in den normalen Blättern die der unteren Epidermis sich unmittelbar anschließenden Schwammparenchymzellen groß sind und ein reiches Interzellularsystem zwischen sich frei lassen, haben die betreffenden Zellen sich in der Galle bedeutend vergrößert und bilden so einen unnachgiebigen Mantel. Nach Zerstörung der oberen Epidermis und eines großen Teiles des Mesophylls bleiben auf der Unterseite nur die Epidermiszellen und die wasserreichen, großen Schwammparenchymzellen bestehen. Zugleich mit der Hypoplasie der Palisaden werden die ventralen Zellen größer, die zwei Schichten des Schwammparenchyms teilen sich in 5—7 Schichten und „die dritte Schichte dieses Gewebes, die aus großen, wasserreichen Zellen besteht, ist nicht nur etwas protoplasma-reicher geworden, sondern die Zellen haben sich auch in zwei oder vier Teile geteilt.“ Diese unverkennbare Bevorzugung in der Entwicklung der ventralen Zellen fast unmittelbar an der Epidermis erinnert lebhaft an die Bilder der II. *Prunus*galle, in der ebenfalls eine hypodermale Zellenzone sozusagen das ganze Bewegungsgewebe geliefert hatte.

#### Die Gallen der *Aphis pomi* und des *Prociphilus xylostei*.

Für diese beiden, vom normalen Blattbau am wenigsten abweichenden Gallen ist eine Eigentümlichkeit gemeinsam. Es sind überall die Gefäßbündel, oder besser gesagt, die Blattnerven, von außen betrachtet, die tiefsten Punkte, während sich das zwischenliegende Blattgewebe konvex vorwölbt, so daß man im Querschnitte den Eindruck gewinnt, als wären sämtliche, wenigstens die größeren, Nerven mehr oder weniger gegen das Galleninnere zurückgezogen,

<sup>108)</sup> Zimmermann, A., Über einige durch Tiere verursachte Blattflecken. (Ann. d. Jard. botan. Buitenzorg. T. 17. (2.) 1901. p. 102.)



während sich das Blattgewebe als geschlungene Linie darüber hinzieht; es liegt hier dieselbe Erscheinung vor, die M. Molliard (71) [l. c.] bei der *Schizoneura lanuginosa* galle beobachtet hatte und für die er einen aspect cérébroïd feststellt, „par le fait de la proéminance des portions du limbe comprises entre les nervures.“

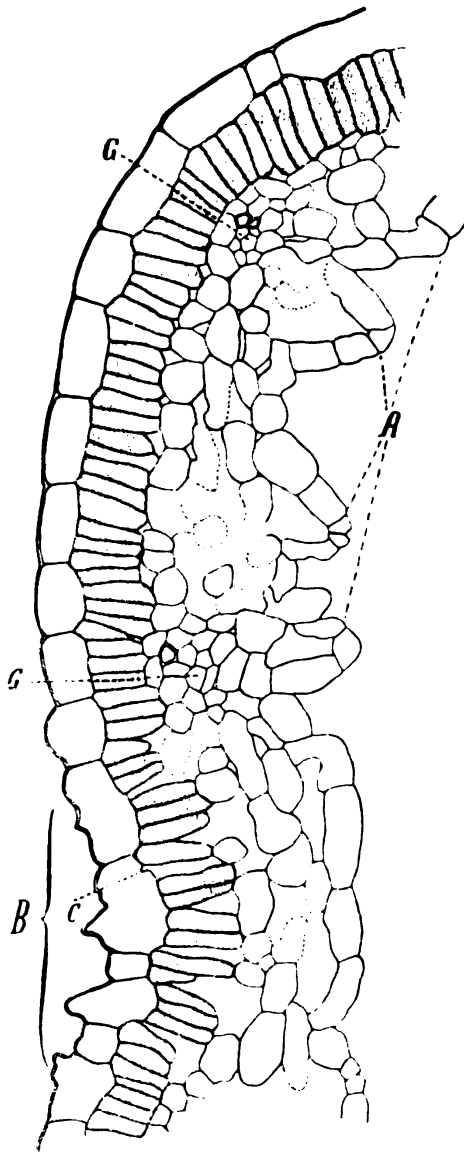


Fig. 22.

Zusammenhang stehen. Es ist immerhin allerdings schwer, Ursache und Wirkung scharf auseinander zu halten und mit Sicherheit zwischen passivem und aktivem Wachstum zu unterscheiden, obwohl wir, mit Rücksicht auf die bisher erkannte Rolle der Hypodermis, in ihr mit einiger Wahrscheinlichkeit die aktive Ursache für die lokale Abhebung von Epidermiszellen, die dann zu passivem Wachstum angeregt worden wären, erblicken dürfen.

Im folgenden betrachten wir zuerst die etwas weiter differenzierte und

Mit der *Prunus* galle und *Fraxinus* galle haben diese beiden Cecidien gemeinsam, daß auch hier neben den aktiven noch passive Veränderungen auftreten, die sich einerseits in Form von Zerknitterungen bestimmter Wände, andererseits im faltigen Abheben ganzer Zellflächen zu erkennen geben. Für die *Prociphilus* galle verweise ich zunächst auf die Figuren 5a und 22. Bei A [Fig. 22] sieht man deutlich, daß die Epidermis in derben Falten abgehoben ist, ähnliche, fast überkippte Falten zeigen sich bei der *A. pomigalle*. Diesen Veränderungen entsprechen an der Oberseite schwächere in Form von Verknitterungen an Außen- und Innenwänden der Epidermiszellen (Fig. 22, bei B und speziell C) namentlich häufig in der unmittelbaren Umgebung von Gefäßbündeln (Fig. 5a A), über deren Zusammenhang mit der Gallenkrümmung und bestimmten Aktivitätszonen ich gleich Weiteres mitteilen werde. Besonders für die *Prociphilus* galle erwähne ich ferner, daß sich die Epidermiszellage an der Unterseite der größeren Gefäßbündel nicht selten abhebt; es wäre hierbei, mit Rücksicht darauf, daß die Epidermis der Unterseite überhaupt sehr häufig faltig abgehoben ist, auch hier an passive Veränderung zu denken; die Zellen sind häufig überdies eigentümlich vergrößert, wohl passiv gedehnt; an anderen Bildern aber sieht man deutlich, daß sie nicht bloß eine zufällige Abhebung darstellen, sondern daß namentlich am unteren Ende die Hypodermiszellen Teilungen eingegangen sind, die mit der Abhebung an dieser Stelle zweifellos in



für die Aufstellung allgemeiner Grundsätze für die Entstehung der Blattrollgallen außerordentlich wertvolle *Prociphilus*-galle (Fig. 22): Wir sehen hier zwei aufeinanderfolgende, verschiedene Richtungen der Blattkrümmung, in der Zone A revolutiv, bei B involutiv, und zwar, wie ich hervorheben muß, interessanterweise hier ohne den unmittelbaren Zusammenhang mit einem größeren Blattnerve. Am oberen Ende der Figur ist im Anschlusse der Mittelnerv zu denken, während der nächste größere Nerv links davon erst in einer Entfernung, die etwa der halben Länge des hier gezeichneten Spreitenstückes entspricht, folgt. Mit einem normalen Blatte (Fig. 23) verglichen, ist nun allerdings das kranke Blatt hinsichtlich seiner Palisadenschicht etwas schwächer entwickelt, während die Epidermiszellen annähernd dieselbe Höhe haben wie im gesunden Blatte. In der Zone A, etwa zwischen den beiden kleineren Gefäßbündeln G und G, bildet nun die Epidermis und mit ihr das anschließende Palisadengewebe einen lückenlosen, festen Gewebemantel, der über die gleichzeitig, hauptsächlich hinsichtlich der Epidermiszellen schwächer gebaute Blattunterseite prävaliert und so für die dorsale Seite ein aktives Bewegungsgewebe darstellt. Daß die dorsalen Epidermiszellen hinter den normalen nicht zurückstehen, während die Palisadenzellen zurückgeblieben sind, gibt jenen über letztere ein gewisses Übergewicht. Wir werden jedoch die Rolle der Epidermiszellen allein keineswegs überschätzen dürfen, denn aus der Zone B läßt sich einwandfrei lesen, daß auch die Hypodermis eine nicht zu verkennende Rolle spielt, denn diese Zone unterscheidet sich von A in nichts weiter, als daß die Palisadenzellen hier aus irgendwelchen, nicht näher zu eruierenden Gründen schütter stehen, größere Lufträume zwischeneinander freilassen, mit einem Worte, keinen geschlossenen Gewebemantel mehr bilden. Und sofort konnte sich die Unterseite im Gleichgewicht behaupten, die faltige Abhebung der Epidermis blieb aus. Dafür aber und, weil die benachbarten Epidermiszellen von beiden Seiten mit geneigten Radialwänden gegen diesen Punkt verlaufen, werden die Außenwände und vereinzelt auch die Innenwände (C) verknittert und in Falten gelegt. Dieses Bild zeigt, abgesehen von der nicht zu unterschätzenden Rolle der Hypodermis, zugleich auch, daß die Differenzen in den Kräfteverhältnissen der beiden Blattseiten außerordentlich gering zu sein brauchen, daß das plus auf der einen Seite ganz unbedeutend sein kann, um schon eine deutliche Wirkung im Sinne der Blattrollung zu erzielen. Ohne die dynamische Bedeutung der unteren Epidermis als Gleichgewichtsfaktor des einzigen lückenlosen Zellenverbandes der Ventralseite überschätzen zu wollen, hat sie sich doch in dem Augenblicke erfolgreich in Geltung setzen können, wo das Übergewicht der Oberseite eine Verminderung erfahren hatte.

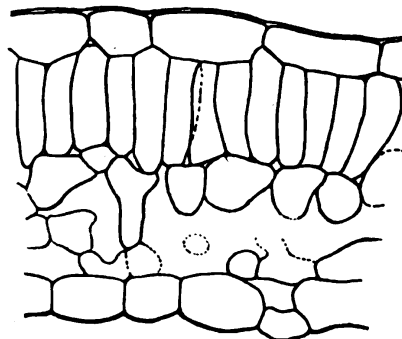


Fig. 23.

Wenden wir uns nun den Blattnerven vom Standpunkte der Entwicklungsmechanik der Blattrolle zu. Wie wir bereits wissen, sind die Gefäßbündel-elemente im kranken Blatte bedeutend reduziert, und dann erscheint das ganze Bündel auffällig nach der Oberseite hin verschoben. Während (Fig. 5 b) die Hadromelemente viel tiefer liegen als das Palisadengewebe, rücken diese (Fig. 5 a) unter gleichzeitiger Reduktion ihrer Zahl in die Zellenhöhe der

Palisadenzellen hinauf, und liegen nun dermaßen mit jenen in gleicher Höhe, daß die Lageverschiebung fast ein Drittel der ganzen Blattdicke ausmacht.

Gleichzeitig damit ist das über dem Gefäßbündel folgende, dorsale Nervenparenchym, das im gesunden Blatte, wie wir wissen, kleinzellig und stark collenchymatisch verdickt ist, im kranken Blatte großzellig geworden und wölbt die darüber laufenden Epidermiszellen derart stark buckelig vor, daß die Nerven im Gallenblatte nicht nur unterseits, sondern auch oberseits als starke Leisten vorragen, so daß der tiefste Punkt der Blattoberfläche nicht jeweils in die Symmetrieebene des Nerven (Fig. 5 b A), sondern zu beiden Seiten desselben in einiger Entfernung davon bereits über Elemente der bündelfreien Blattspreite zu liegen kommt (Fig. 5 a A). Die schon hier unverkennbare

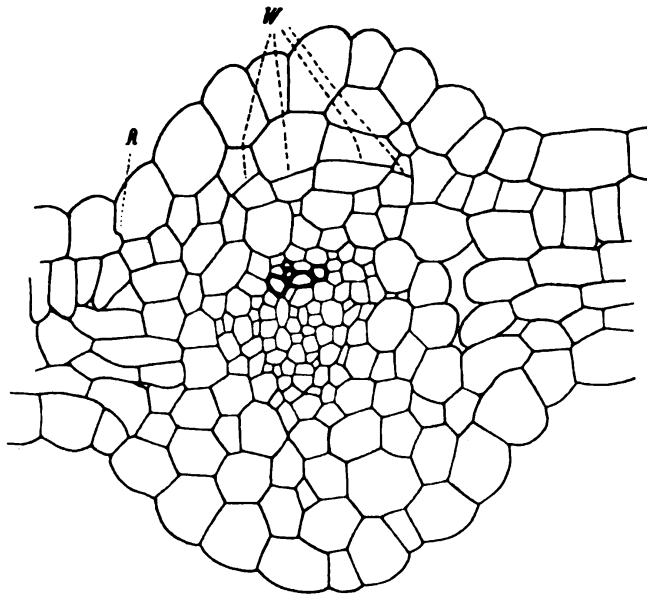


Fig. 24.

Zellenhypertrophie des Nervenparenchyms der Oberseite tritt in der in der Entwicklung zurückgebliebenen Blattspreite des Blattrandes noch deutlicher hervor. Jüngste perikline Zellwände (Fig. 24 W) deuten dort auf lebhaft Hyperplasie und Hypertrophie, als deren Effekt schließlich diese Nerven nach der Oberseite genau so weit vorragen als nach der Unterseite.

Zum Verständnis der zu beiden Seiten der Nerven dorsal auftretenden Verknitterungen der Epidermiszellen ist noch die Betrachtung der Verhält-

nisse an der Unterseite erforderlich. Hand in Hand mit der Verminderung der Gefäßbündelelemente geht eine solche der die Unterseite des Bündels begleitenden Parenchymzellen, die im normalen Blatte als mächtige Leiste vorspringen und zugleich mechanisch gut ausgerüstet sind. Es scheint kein Zweifel, daß zugleich mit der Verminderung der Leptomelemente einerseits die Parenchymzellen viel weiter nach oben rücken konnten, und daß sie andererseits im Vergleiche zu den betreffenden Zellen des gesunden Blattes, also nicht nur relativ, sondern absolut größer geworden sind. Diese Hypertrophie betrifft besonders die Epidermis und Hypodermis, namentlich zu beiden Seiten der Symmetrieebene. Dazu kommt, daß die Angriffspunkte eines solchen Bewegungsgewebes ungleich günstiger liegen als im normalen Blatte, da die Zellen gewissermaßen nicht auseinander können und sich nicht, wie dort, sozusagen selbst zur Inaktivität verurteilen. Der ganze Zellenkomplex des ventralen Nervenparenchyms stellt demnach ein aktives Bewegungsgewebe dar, dessen Leistungen in der jederseits des Bündels einsetzenden Nachobendrückung der Spreite klar zum Ausdruck kommen und das durch die lokale Aktivitätszone der Dorsalseite, mit Rücksicht auf deren geringere Entfaltung, nicht aufgehoben werden konnte, wie Fig. 5 a klar erkennen läßt. Wo sich, wie im Blattrande häufig zu beobachten (Fig. 24) war, die beiden Zellmassen

die Wage halten, unterbleibt bezeichnenderweise eine Nachobendrückung, der paranervalen Spreitenteile.

Jetzt erst können wir auch die Verknitterungen an der Oberseite verstehen. Daß die dorsalen und ventralen Aktivitätszonen gewissermaßen abwechseln, wäre noch kein zwingender Anlaß für die Zerdrückung besagter Zellwände, wenigstens nicht in dem tatsächlich gegebenen Maße, da hierzu die Aktivität der ventralen Zone etwa den Grad erreichen müßte, den die *Prunus* galle des 1. Typus aufgewiesen hatte. Nun aber kommt noch die sekundäre, dorsale Aktivitätszone dazu, die beiderseits in der Richtung gegen die anschließenden Epidermiszellen drückt, mit einer Kraft, die offenbar die des übrigen dorsalen Gewebes übertrifft. Die gedrückten Epidermiszellen können nun aber in nervofugaler Richtung nicht ausweichen, da sie auf den Widerstand der ausgebreiteten, dorsalen Aktivitätszone stoßen, die ihrerseits dieselben Zellen in nervofugaler Richtung fortzudrängen suchen. Diese Epidermiszellen (Fig. 5 a A) werden also gedrückt und erhalten gefaltete oder verknitterte Zellwände. Daß nicht nur tangential, sondern auch radiale Zellwände in Mitleidenschaft gezogen werden, hat seinen Grund darin, daß die beiden einander bekämpfenden Kräfte nicht senkrecht aufeinander wirken, sondern schräg von oben, unter einem bestimmten Winkel gegeneinander geneigt. Eine einheitliche Betätigung der dorsalen Aktivität im Sinne einer scharfen Einrollung aber verhindert die überwiegende ventrale Aktivitätszone, die die Spreiten energisch nach oben biegt und passive Veränderungen der dorsalen Seite dort zur Folge haben wird, wo der Widerstand am kleinsten ist (eben in den beiden Zonen bei A, wo das Palisadengewebe, ähnlich wie bei B in Fig. 22, etwas schütter steht).

Wie wir also klar erkennen können, sind es der Hauptsache nach zwei Aktivitätszonen, eine dorsale und eine ventrale, deren abwechselnde Wirkungsweise schließlich zur Bildung jener Wellenlinie im Querschnitte führt, die wir als Charakteristikum für die beiden Gallen bezeichnet haben. Die größere Ausdehnung der dorsalen Aktivität hat schließlich die Einrollung des Blattes nach unten zur Folge, infolge dessen sind auch diese Gallen revolutiv. Und daß bei dieser Galle der Blattrand „eigentümlicherweise“ stärker als die übrige Spreite gerollt erscheint, hat, unter Hinweis auf die Fig. 24, seine einfache Erklärung darin, daß die ventrale Aktivität hier völlig durch eine adäquate dorsale aufgehoben erscheint, und, wenn hier schon eine Unterbrechung der fortlaufenden Rollung eintritt, doch keine Gegenwirkung zu befürchten, mithin eine Verzögerung in der Erzielung des Endeffektes zu erwarten wäre. Bezeichnenderweise hört daher in der Randpartie der „aspect cérébroïd“ auf, oder wird doch viel undeutlicher als sonstwo. Auf die Frage, wieso sich der Blattrand anders verhielt als die übrige Spreite, kommen wir noch zurück.

Die Annahme, daß die Gefäßbündel schon durch „ihre Lage“, wie bei den gesunden Blättern, einen mechanischen Widerstand gegen so pathologische Rollungen leisten und sich daraus der „geschlungene“ Verlauf im Querschnitte ergeben würde, scheint mir kaum berechtigt. Die von mir studierten Veränderungen lassen sich jedenfalls ungezwungen aus den anatomischen Bildern erklären. Und dann dürfen wir von einem Gefäßbündel, das mechanisch vollkommen blank liegt, kaum erwarten, daß es schon durch seine Lage resistenzfähig wäre, wie etwa die Nerven im gesunden Apfel- und *Lonicera* blatte. Zudem dürfen wir nicht vergessen, daß der mechanische Bau der Blätter auf Biegefestigkeit, also auf Widerstandsfähigkeit gegen

Biegung, hauptsächlich in der Richtung vom Blattgrunde zur Blattspitze, abzielt, die Dorsalseite in erster Linie auf Zug, die ventrale auf Druck in derselben Richtung eingerichtet ist, während eine Biegungsresistenz in marginopetaler Richtung damit ursprünglich nur unvollkommen verbunden ist und höchstens noch aus dem Bündelverband sich ergibt. Das Gleichgewicht der Blätter in dieser Hinsicht hat seine Ursache wohl in anderen Momenten, nicht aber in der mechanischen Ausrüstung.

Ja, ich habe schon an anderer Stelle betonen müssen, daß zur Schaffung von Blattrollen die unentbehrliche Grundlage die völlige Vernichtung, bzw. Unterdrückung der mechanischen Elemente ist, damit die betreffenden Zellen dünnwandig, wachstumsfähig, turgeszent bleiben und so im Wege der Hypertrophie und Hyperplasie, die die Einrollung erzeugenden aktiven Bewegungsgewebe konstituieren können. Was für die Biegungsfestigkeit Dickwandigkeit der Zellen ist, das ist für das Bewegungsgewebe der Rollgallen Wachstum und Turgeszenz.

Mit vollem Rechte nimmt R. Houard (40) [l. c.] für das eigentümliche, in der Galle von *Tilia m. volvens* auf *Tilia silvestris* auftretende Band verholzte Zellen im Mesophyll von interfascicularem Verlauf den Einwand vorweg, daß diese Zellen mit der Einrollung im Widerspruch ständen und sie verhindern könnten, indem er auf sehr junge Gallen hinweist, welche zeigen „que ces cellules ne sont à ces stades que légèrement épaissies. Elles ne sont donc pas un obstacle à l'enroulement. Elles différencient définitivement et lignifient leurs parois quand l'enroulement est constitué\*), et lui servent d'armature.“ Mögen sie also auch nachträglich an der Verfestigung der Rolle teilnehmen, die Einrollung selbst ist hier lediglich auf Hypertrophie und Hyperplasie bestimmter, wachstumsfähiger, turgeszenter Zellen zurückzuführen. Ebenso wie sie durch ihre Entwicklung nachträglich die Galle festigen, hätten sie vorher in gleicher Richtung also marginopetal entwickelt sein müssen, um die Einrollung zu verhindern, was die geringere Bedeutung der Bastschienen an den im allgemeinen dem Mittelnerv parallel laufenden Seitennerven für eine erfolgreiche Verhinderung der Einrollung von neuem demonstriert, ganz abgesehen davon, daß den Gallen solche mechanische Zellverbände fehlen.

In ähnlicher, aber schwächerer Entwicklung lassen sich die für die *Pro-ciphilus* galle beschriebenen Verhältnisse auch an der Galle der *Aphis pomi* konstatieren. Am geringsten sind die bezüglichen Veränderungen bei dem jüngeren Blatte. Es treten wohl vereinzelt auch Faltungen der unteren Epidermis auf, und sogar schwache Verknitterungen der Epidermiszellen im Bereiche der Dorsalseite des Blattnerven treten auf, der durchwegs meristematische Charakter der Zellen aber macht tiefergreifende Veränderungen durch Druckwirkung fast unmöglich. Bei dem älteren Exemplare, das ich untersucht habe, sind die bezüglichen Veränderungen schon stärker, namentlich tritt die faltige Abhebung der ventralen Epidermis sehr deutlich und scharf hervor, und an der Oberseite der Nerven zeigt die Epidermis schon sehr scharfe Knickungen ihrer Wände, lauter Erscheinungen, die sich unmittelbar aus demselben Prinzip erklären lassen wie bei der *Pro-ciphilus* galle. Erwähnt sei, daß — und das gilt auch für die *Pro-ciphilus* galle — die beiden in Fig. 5 a mit B bezeichneten Zonen bei kleineren Bündeln nahe aneinanderrücken und dort zu einer Passivitätszone ver-

\*) Sperrdruck von mir.

schmelzen können. Auch der spezielle anatomische Bau zeigt viel Übereinstimmendes. Von dem auch hier geltenden völligen Mangel an mechanischen Zellen abgesehen, ist das Gefäßbündel der Nerven viel weniger tief nach der Unterseite hin versenkt, wie im normalen Blattbau; der Hadromteil scheint im gesunden Blatte, das mit einem mehrschichtigen Palisadengewebe ausgestattet ist, viel tiefer gelegen, und es schaltet sich darüber ein collenchymatisch verdicktes Parenchym ein, von den Bastzellen hier ganz abzusehen. Außerordentlich charakteristisch ist die Übereinstimmung mit der *Prociphilusgalle* auch darin, daß selbst bei stärkeren Gefäßbündeln im normalen Blatte die Palisadenzonen viel näher aneinander liegen als im kranken Blatte; ebenso beachtenswert ist, daß der kranke Nerv nie so weit über die Unterseite als Leiste vorragt, so daß die dort auftretenden, großzelligen Elemente, von denen sich wiederum, so wie bei der Aphidengalle und der *Prociphilusgalle* auf *Lonicera*, die größten Zellen unmittelbar an die Epidermis anschließen, ihre Rolle als Bewegungsgewebe unbehindert betätigen können, daß es hier genau so wie bei der *Prociphilusgalle* zu einem Widerstreit zwischen den beiden Aktivitätszonen, von denen die dorsale aus der Krümmung der Spreite und der faltigen Abhebung der ventralen Epidermis erschlossen werden muß, kommt. Ich habe schon früher einmal betont, daß eine solche relative Hypertrophie der dorsalen Elemente für die einzelne Zelle unter der Wahrnehmung klein sein, summarisch aber doch sehr wohl als Übergewicht zur Geltung kommen kann. Jedenfalls ist die *Aphis pomigalle*, die man bei flüchtiger Betrachtung kaum zu den Gallen stellen würde, deshalb von hohem Interesse, weil sie den einfachsten, primitivsten Typus der Rollgallen darstellt und zugleich die Brücke von den Blattlausgallen (immer im Sinne von Rollgallen) zu den Blattlaus besetzten, aber nicht eingerollten Blättern, den „Nichtblattlausgallen“ (wofern es solche in letztem Sinne überhaupt gibt), herstellt.

#### Vergleich der beiden *Lonicera*-Gallen.

Noch sind wir für manche der oben gegebenen Behauptungen, namentlich für die Annahme eines Übergewichtes bestimmter Blattseiten, die keine so starke Hypertrophie oder Hyperplasie aufweisen, wie bei der *Prunus*- und *Fraxinusgalle*, den Beweis schuldig. Und nichts kann uns hier wertvoller sein, als ein Vergleich der beiden *Lonicera*-Gallen, weil erstens die eine involutiv, die andere revolutiv ist und zweitens in beiden Fällen der normale Bau nicht so stark verändert worden war, und wir in jedem Falle die Beziehung bestimmter Zellelemente der Galle zur physiologischen Funktion des normalen Gewebes dieser Zone feststellen können.

Das ganze Gewebe der Aphidengalle ist auf einem viel niedrigeren Entwicklungsstadium stehen geblieben, die Zellen sind kleiner\*), zarter; Chlorophyllgehalt ist minimal, der Bau des Palisadengewebes in Verbindung mit der oberen Epidermis läßt erkennen, daß der Aphidengalle im Vergleiche zur *Prociphilusgalle* jede dorsale Aktivitätszone fehlt. Die unmittelbare Folge dieser Tatsache ist, daß die Epidermiszellen der Blattunterseite sich bei der Aphidengalle nicht in Falten abgehoben haben. Das Fehlen des letzteren Phänomens ist ein Beweis für herrschendes Gleichgewicht, also

\*) Erwähnt sei, daß sich beide Gallen auf einem und demselben Strauche befanden und von mir gleichzeitig konserviert worden waren; die Blätter waren annähernd gleich alt, jedoch in ihrer Entwicklung unter dem Einflusse der beiden Galläuse in sehr verschiedenem Maße gehemmt.

Nichvorhandensein einer dorsalen Aktivität, die Faltenlegung ein Beweis für deren Vorhandensein, für ein dorsales Übergewicht. Die kranken Gefäßbündel der Aphidengalle scheinen nicht unähnlich denen der *Prociphilus* galle; auch hier sind die Elemente der Unterseite größer, doch fehlen die im weit vorgeschrittenen *Prociphilus* blatte so deutlich ausgeprägten, großen, anschließenden Zellen des ventralen Epidermismantels. Die Hypertrophie des dorsalen Nervenparenchyms fehlt, im Gegensatz zur *Prociphilus* galle, hier nahezu ganz.

Der Mittelnerv des *Prociphilus* blattes gleicht vielmehr dem normalen Mittelnerv als der Aphidengalle. Im Querschnitte ist der ganze Komplex von Gefäßreihen viel breiter und größer und über demselben finden sich sogar hypertrophierte Zellen, fast ohne mechanische Verdickung. Diese Orientierung hat zur Folge, daß die beiden Hälften der Blattspreite förmlich auseinandergedrängt werden und nicht nur in die Flächenlage kommen, sondern sogar eine sanfte Krümmung nach unten erfahren. Als Folge davon wäre denkbar, daß sich die ventralen Epidermiszellen eine Strecke weit lösen und vorgewölbt würden, was einen Unterschied gegenüber dem für die *Prunus* galle (1. Typus) beschriebenen aktiven Wachstum (S. 67) von ähnlicher Ausdehnung ergeben würde. Die tatsächlich vorhandene Hypertrophie des ventralen Nervenparenchyms der *Prociphilus* galle schließt indessen auch die Möglichkeit aktiven Wachstums nicht aus (siehe auch S.84). Mit der von F. Thomas (101) [l. c.] für die Blattgrübchen von *Vaccinium uliginosum* (durch Dipteren) beschriebenen Ablösung der Epidermis vom Parenchym „vermutlich, weil sie nicht dehnungsfähig genug ist, um der Ausstülpung zu folgen“, werden wir unsere Bilder kaum vergleichen dürfen.

Das im Zellengefüge bedingte Überwiegen der ventralen Parenchymzellen kommt hier infolge der dorsalen Hypertrophie nur in geringem Maße zur Geltung. Bei der Aphidengalle ist der Mittelnerv jedoch sehr schwach, ein relativ geringer Komplex von Gefäßen, die keinen einheitlichen Stab bilden, sondern nur schwache Leistchen darstellen und darüber viel weniger parenchymatisches Gewebe charakterisieren ihn. Dazu kommt an der Oberseite: Keine großen Epidermiszellen, keine relative Hypertrophie oder doch nur annähernd normale Entwicklung und dadurch Präpotenz des Palisadengewebes, nichts also, das der Betätigung des Bewegungsgewebes an der Ventralseite im Wege stünde. Hier kann sich das Übergewicht des ventralen Nervenparenchyms, obwohl es, und das will ich besonders betonen, quantitativ hinter dem der *Prociphilus* galle zurücksteht, viel stärker, ja ungehindert, betätigen und entfalten; die beiden Hälften der Blattspreite werden in scharfem Knie nach oben gedrängt. Dieses Verhalten ist zugleich ein Beweis für die Richtigkeit der Erklärung der Aktivitätsverhältnisse an der *Prociphilus* galle, an der dorsale und ventrale Bewegungsgewebe nebeneinander zur Geltung kommen.

Ferner ist es für die *Prociphilus* galle bezeichnend, daß am Mittelnerv des normalen Blattes die Palisadenzonen viel näher aneinander reichen, daß ferner dazwischen nur collenchymatische Zellen liegen und die Epidermiszellen darüber viel weniger breit sind, als im anschließenden Teile der Blattlamina. Sind nun auch im infizierten Blatte die Epidermiszellen etwas schmaler, so ist doch ein mächtiger aktiver Zellenkomplex eingeschaltet, der für den Mittelnerv gewissermaßen die Aktivität des Palisadengewebes fortsetzt; dieses Prävalieren über die Unterseite verhindert zugleich, daß der Mittel-

nerv, ähnlich wie die kleineren Nerven, häufig in die Tiefe gedrängt erscheint, so daß wir infolge der Unterdrückung der ventralen Aktivität hier auch an der Dorsalseite über dem Palisadengewebe keine passiven Veränderungen (Verknitterungen) feststellen können. (Würde in Fig. 22 an den Zellen rechts oben zu erwarten gewesen sein, da sich dort der Mittelnerv unmittelbar anschließt.)

Die Natur der Blattlausgallen, mannigfach kombinierte Wirkungen bringen es mit sich, daß viele Stellen der Galle keine so klaren Bilder zeigen, wie sie oben für jede Galle beschrieben wurden, die Verhältnisse sind nicht überall gleich durchsichtig. Immerhin war es möglich, aus dem Vergleiche der einzelnen Gallen, wie ich hoffe, einwandfrei die Wirkungsweise bestimmter Aktivitätszonen und das Auftreten von Passivitätszonen aufzufinden. Die Einrollung ist demnach stets ein Ergebnis von Entwicklungsdifferenzen auf die wir nun im folgenden Kapitel noch eingehen wollen.

### Die Entwicklungsmechanik der Blattrollgallen.

Es erübrigt nunmehr eine prinzipielle Darstellung des ganzen Tatsachenmaterials und namentlich der Versuch, alle diese Fälle, die involutiven und revolutiven Gallen, nicht auf zwei, sondern auf einen einzigen Grundtypus zurückzuführen, aus dessen Differenzierung nach zwei Richtungen sich die in der Natur gegebenen Fälle erklären lassen. Meine bezüglichen Darstellungen behalten vor allem die Blattlausgallen im Auge, nehmen aber auch auf andere Cecidien Bezug, weil ich es für sehr wahrscheinlich halte, daß der Weg der Umgestaltung auch bei anderen Blattrollen derselbe ist, für welche allerdings weitere Untersuchungen in dieser Richtung dringend notwendig sind, um die Prinzipien der Blattrollung in jeder Hinsicht klarlegen zu können.

In jüngster Zeit hatte die Frage nach der Entwicklungsmechanik der Blattrollgallen R. Houard (40) [l. c.] aufgeworfen; doch hatte ihm offenbar nicht das nötige Material an Zwischen- und Übergangsstadien zur Verfügung gestanden, so daß sich aus seinen Untersuchungen noch nicht die einheitliche anatomisch-physiologische Grundlage der Blattrollung aller Typen ergeben konnte, und dann ist er in seinen „Conclusions“ nicht konsequent geblieben, indem er zwischen graduellen und essentiellen Verschiedenheiten nicht scharf genug auseinanderhält und so seine Typen nicht den Wert gleichwertiger Glieder einer Reihe erhalten konnten. Er hatte, um es kurz zu sagen, zu sehr auf die absolute und nicht, wie ich es getan habe, auf die relative Entfaltung der Gallengewebe Gewicht gelegt. Ich habe schon an anderer Stelle betont, daß es gleichgültig ist, ob normale Entwicklung der einen Seite Hypoplasie der anderen, oder Hypertrophie normaler Entwicklung oder schließlich starke Hypertrophie und Hyperplasie schwächerer Hypertrophie und Hyperplasie entgegensteht; in allen diesen Fällen muß das Resultat dasselbe bleiben, die Entwicklungsmechanik ist in allen diesen Fällen durch ein Prävalieren derselben bestimmten Gewebezone gekennzeichnet. Solche Abstufungen sind zwar für die Beurteilung der Reizqualität und -intensität, bezw. Reaktivität der betreffenden Pflanze und dgl. mehr interessant, entwicklungsmechanisch aber spielen sie keine Rolle, weil sie nur graduelle Abstufungen desselben Prinzips darstellen.

Jede pathologische Blattrollung ist offenbar eine Störung im normalen Gleichgewicht der Blattgewebe, eine Störung, die sich von der Vernation im allgemeinen unterscheiden läßt, als letztere nur ein temporäres Stadium und ein Vorläufer der normalen Spreitenlage ist, die Blattrollgalle aber

eine Ablenkung der Entwicklung aus der normalen Bahn zumeist nach Entfaltung der Blätter aus der Knospenlage darstellt und zu einem für die Pflanze in den meisten Fällen nicht mehr reparierbaren Dauerstadium wird. Ich will die Schwierigkeiten einer scharfen Abgrenzung keineswegs verkennen, zumal wir über die Entwicklung der einzelnen Gewebe während der Knospenentfaltung noch recht wenig wissen, und es andererseits Blätter gibt, die, wie es scheint, Charaktere der Jugendzeit in das Dauerstadium mitgenommen haben und an die später zu besprechenden Prismengallen des Sekundärstadiums erinnern. Als interessantes Beispiel erwähne ich das von mir (109) [l. c. p. 50, Abb. 16] untersuchte Blatt von *Smilax*, dessen Spreite, von der schwachen Knickung am Mittelnerv abgesehen, in drei Ebenen verläuft, indem an mächtigen und zugleich gehäuften Seitennerven eine abermalige scharfe Biegung der Spreite nach der Oberseite hin eintritt. Und während die ventralen Leisten des Nervenparenchyms bei den meisten Blättern schmal, aber hoch sind, oder doch eine schmale Ansatzstelle haben (ich erinnere an den Mittelnerv von *Prunus* (Fig. 12), ist es hier (bei *Smilax*) durch die Anhäufung von Gefäßbündeln auch schon im Mittelnerv zu einer unverhältnismäßig starken Verbreitung der ventralen Parenchymleiste gekommen, und zwar an ihrer Ansatzstelle, also in der Höhe der unteren Epidermiszellen, so daß die ventralen Gewebemassen tatsächlich ein Übergewicht bekommen konnten, und, wie die Spreitengestaltung zeigt, auch erhalten haben. Jedenfalls ist sicher, daß, was im kranken Blatte als Bewegungsgewebe die Hypertrophie relativ weniger Zellen zu leisten vermag, hier von einer Massierung ventraler Parenchymzellen erzielt werden kann, allerdings als Folge einer ganz unregelmäßigen Verteilung starker Gefäßbündel in der Blattspreite, mithin in einer abweichenden morphologischen Organisation des ganzen Blattes begründet. Nach weiteren ähnlichen Fällen zu suchen, wäre außerordentlich wertvoll.

Das Gleichgewicht der Gewebe im gesunden, normalen Blatte basiert auf einer Reihe von Faktoren, die klar aufgezeigt zu haben, das Verdienst R. Howard's ist: „dans la feuille normale, les mailles vasculaires constituent un cadre plus ou moins rigide. Le tissu palissadique, grâce à ses cellules longues, serrées et régulièrement disposées transversalement représente une zone de stabilité. Le tissu lacuneux est au contraire une région essentiellement malléable en raison de ses espaces vides lacuneux repartis. Quant aux épidermes, s'ils offrent une certaine résistance, grâce à leur disposition régulière, à leur structure histologique et à leurs cuticules plus ou moins épaisses, ils ne font néanmoins que se mouler sur les tissus internes.“ Von diesem normalen Verhalten nun leiten sich alle die heterogenen Fälle der Blattrollung ab, überall dort wenigstens, wo die Infektion nach Ausbreitung des Blattes aus der Knospenlage erfolgt, und sicherlich auch überall dort, wo die spätere Rollgalle gestaltlich und der Lage nach nichts mehr mit der Knospenlage des Blattes zu tun hat, worauf wir übrigens noch zurückkommen werden, da wir doch annehmen müssen, daß das oben skizzierte Gleichgewicht der Gewebe auch schon an ganz jungen Blättern, soweit sie schon aufgerollt sind, zu Recht besteht und die Teilkkräfte, wenn sie auch noch so schwach zur Geltung kommen, doch schon einander die Wage zu halten vermögen. Eingehender Untersuchungen wird es späterhin bedürfen, um die bezüglichen Verhältnisse für die *Tetraneura ulmi*-galle klarzulegen, da die Stammutter schon die allerjüngsten, noch in der Knospenlage befindlichen Blätter angreift und zwischen die Falten des noch



ganz zusammengelegten Blättchens hineinsticht. Wie wir gesehen haben, genügt es wohl nicht, wie das bisher zumeist geschehen ist, zu sagen: die dem Parasiten abgewandte Seite wächst stärker und bewirkt dadurch die Einrollung, denn die Sache liegt viel komplizierter und das Bewegungsgewebe setzt sich aus recht heterogenen Elementen zusammen, da die Blattspreite nicht nur nicht äquivalente (nicht zu verwechseln mit äquipotentiell [K ü s t e r]) Mesophyllzellen, sondern auch zahlreiche Gefäßbündel hat, die als Gleichgewichtsfaktoren anders auftreten als die bündelfreie Spreite.

Untersuchen wir resumierend und zunächst abgesehen von Gewebedifferenzierungen, welche Zellage am stärksten in Mitleidenschaft gezogen, mithin als Bewegungsgewebe am stärksten in Betracht gekommen war, so hat sich ergeben, daß es dorsal wie ventral vorwiegend die Hypodermis und erst in zweiter Linie die Epidermis und tiefere Schichten waren, wir mithin die Hypodermis als das wichtigste Bewegungsgewebe ansprechen müssen. Die Auffassung über die Sonderstellung dieser beiden Gewebe in entwicklungsmechanischer Hinsicht findet schon bei K ü s t e r (53) [l. c. p. 519] eine interessante Beleuchtung: „Zellen, welche an der Oberfläche eines Organs liegen, stehen unter anderen entwicklungsmechanischen Bedingungen als diejenigen, welche auf allen Seiten von anderen Zellen umgeben sind, Zellen, welche nur durch eine Zellschicht von der Oberfläche getrennt sind, unter anderen Bedingungen als die Zellen tiefer liegender Schichten.“ R. H o u a r d unterscheidet bei seinen Galltypen nicht scharf zwischen diesen Fällen, sondern bringt sie ohne Beziehung zueinander getrennt zur Sprache. Für seinen ersten Typus (*Enroulement par processus hypertrophique et hyperplasique* [nach oben]) findet er an der Außenseite der Rolle die Hypodermis am stärksten engagiert; es traten zahlreiche Zellteilungen auf, die Zellen hypertrophierten und führten zum vollkommenen Verschwinden der Interzellularräume. Den Vorrang der Hypodermis vor der Epidermis aber erkennt er mit folgenden Worten an: „C'est lui qui appuyé sur l'épiderme inférieur, également très hypertrophié, provoquera la poussée verticale déterminante l'enroulement.“ In seinem dritten Typus spielt die obere Epidermis „un rôle essentiel dans l'enroulement“, gleichwohl gibt er zu, daß aus dem übrigen Blattgewebe ein Gallengewebe von großen Zellen entstanden ist, „qui viendront accentuer le rôle joué par l'épiderme supérieur.“ In dem hauptsächlich durch Hypoplasie entstandenen 4. Typus erwähnt er zwar eine „épiderme très solide“, meint aber doch, daß die ganze „région externe constitue la zone active qui provoquera l'enroulement par en haut“. Unentschieden läßt er schließlich, welche Zellschichten in seinem 2. Typus (*Enroulement par processus hyperplasique vers en bas*) den Hauptkonstituenten der aktiven Zone darstellen.

Daß im allgemeinen, von kleinen Schwankungen abgesehen, die Hypodermis vor der Epidermis den Vorrang hat, habe ich an zahlreichen Bildern zeigen können und gilt sowohl für die Blattober- wie auch für die Blattunterseite. Die inneren Ursachen hierfür mögen unter anderem wohl darin liegen, daß die Epidermis, wie schon lange bekannt ist, sich an solchen Reaktionen überhaupt viel schwächer und seltener beteiligt. L. M. M a r x (65) hat in neuerer Zeit wiederum darauf hingewiesen, daß auch Intumeszenzbildungen nie von der Epidermis ausgehen, während sowohl das Palisadengewebe als

<sup>65)</sup> M a r x, L. M., Über Intumeszenzbildung an Lauchblättern infolge von Giftwirkung. (Österr. bot. Zeitschr. Bd. 61. 1911. p. 49.)

auch das Schwammparenchym Ausgangspunkt hierfür sein kann. Solche Tatsachen lassen auch das Prävalieren der Hypodermis vor der Epidermis bei den Rollgallen weniger auffallend erscheinen. Bei der Mannigfaltigkeit der Bilder und der großen Verschiedenheit in der Intensität der Gallbildungen in den einzelnen Punkten einer und derselben Galle ist auch eine Grenze des Bewegungsgewebes gegen die Innenseite der Rollgalle zumeist nicht scharf zu ziehen; es treten häufig noch tiefere Zellagen hinzu, die die Hypodermis und Epidermis sekundär funktionell unterstützen. Ganz allgemein können wir demnach den Satz aufstellen: Das Bewegungsgewebe für die Bildung der Rollgallen findet in der Hypodermis das Maximum seiner Entwicklung.

Betrachten wir nunmehr die Genesis der Blattrollen in ihrer Gesamtheit. Für seinen I. Typus kommt R. Howard zur Überzeugung, daß alle Gewebe an der Rollbildung aktiv beteiligt sind. Die Epidermis der Oberseite erfährt eine Hemmung, das Palisadengewebe differenziert sich in der Mehrzahl der Fälle nicht in senkrecht zur Fläche gestreckte Zellen, es wird durch Hyperplasie zu einem „tissu compact“, und entbehrt als solches des Widerstandes, den es im gesunden Blatte zu leisten berufen ist. Auch die Gefäßbündel nehmen am Bewegungswachstum aktiv Anteil, durch die stärkere Entfaltung seiner Elemente an der Leptomseite. Das ventrale Gewebe hat in seiner Gesamtheit die Rolle eines Bewegungsgewebes übernommen, das zusammen mit der Epidermis den geringeren Widerstand der Oberseite überwindet. Dieser Galltypus zeigt demnach eine gleichmäßige Verteilung des Bewegungsgewebes auf die ganze Ventralseite: Gefäßbündel und Mesophyll.

Der von R. Howard beschriebene 4. Typus unterscheidet sich von dem ersten offenbar nur graduell. Die Rollung erfolgt ebenfalls nach oben, das aktive Gewebe, das Howard in der Epidermis erblickt, liegt ventral; ob und welche Rolle die Gefäßbündel spielen, ob die Dorsalseite jeder Aktivität entbehrt, ist leider nicht bekannt, so daß eine definitive Entscheidung über die Zugehörigkeit dieses Falles vorerst nicht möglich wird.

Ferner beschreibt Howard zwei Galltypen, eine für *Phyllocopetes teucris* auf *Teucrium* und einen zweiten für *Perrisia filicina* auf *Pteris*, bei welchen beiden die Rollung revolutiv ist. Seine Mitteilungen beschränken sich auf die Feststellung, daß in beiden Fällen die Dorsalseite aktiv ist, in einem Falle die Epidermis vorgeherrscht hat; es gründet sich seine Unterscheidung der beiden Typen lediglich darauf, daß im ersten Falle ein enroulement par processus hyperplasique, im zweiten ein solches par processus hypertrophique gegeben war; eine aktive Zone an der Ventralseite dürfte beiden Gallen gefehlt haben.

Descriptiv mag die Auseinanderhaltung solcher Typen ihre Dienste tun, prinzipiell bringt sie die Frage jedoch keineswegs zur Entscheidung, denn die Grenze zwischen Hypertrophie und Hyperplasie fällt nicht mit der Abgrenzung bestimmter Galltypen zusammen und überdies gibt es kaum eine Galle, die nur durch Hypoplasie, nur durch Hypertrophie oder nur durch Hyperplasie (von Metaplasien bei diesen einfachen Rollen abzusehen) entsteht; ich erinnere z. B. nur an die einfache *Prociophilus xylostei*-galle, die sogar Hyperplasie zeigt, an die zum großen Teile durch Hyperplasie und auch Hypertrophie entstandene *Prunus*-galle des 1. Typus, deren dorsale Epidermiszellen am Mittelnerv eine ganz gewaltige Entwicklungshemmung erfahren haben u. a. m. Aus den Typen Howard's ist ferner

nicht zu erkennen, ob involutive und revolute Gallen etwas wesentlich Verschiedenes sind, oder ob sie sich doch auf einen einheitlichen Grundtypus zurückführen lassen, so daß wir für jede Pflanze auch im normalen Blatte latente Aktivitätszonen annehmen dürften, deren Mobilisierung durch den Gallenreiz schließlich zur Spezifizierung aller der Sonderfälle führen würde. Wir müssen, mit anderen Worten, trachten, bestimmte, allgemein gültige Gesetzmäßigkeiten aus allen Rollgallen herauszuanalysieren, was im folgenden versucht sein soll.

**Primärstadium.** Wollen wir den Zusammenhang des Bewegungsgewebes mit bestimmten Geweben des normalen Blattes ausfindig machen, so müssen wir solche Gallen zum Ausgangspunkte der Betrachtung wählen, die sich anatomisch am wenigsten vom normalen Blatte entfernt haben, ohne daß wir zunächst auf die Unterscheidung zwischen involutiven und revolutiven Rollen Bezug nehmen wollen. Die Gallen des *Aphis pomi* und des *Prociphilus xylostei* haben gezeigt, daß, obwohl die schließliche Einrollung eine bestimmte Richtung hatte, sich die ganze Rolle aus abwechselnden dorsalen und ventralen Präpotenzen zusammensetzt, so daß sichtlich ein Kampf zwischen der Oberseite und der Unterseite entbrennen mußte. Das Bewegungsgewebe der Blattoberseite entspricht

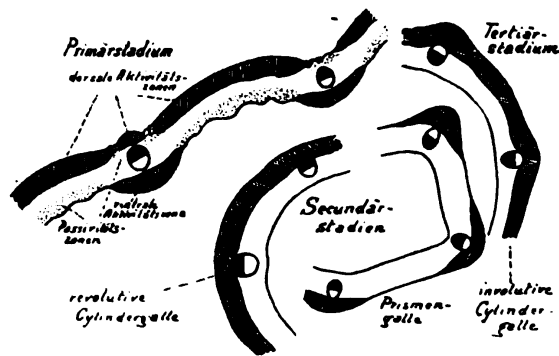


Fig. 25.

topographisch quantitativ der Palisadenschicht, erfährt aber schon bei diesen einfachen Gallen über den größeren Gefäßbündeln häufig keine vollständige Unterbrechung mehr, sondern wird, wenn auch etwas weniger vollkommen, durch eine Parenchymhypertrophie dortselbst ersetzt. Das Bewegungsgewebe der Ventralseite als Aktivitätszone beschränkt sich im primären Stadium auffallenderweise auf das ventrale Nervenparenchym, so daß die Aktivität der Ventralseite hinsichtlich ihrer Ausdehnung gegenüber der dorsalen benachteiligt erscheint und wir, mit Rücksicht auf diese Verhältnisse, die revolutiven Gallen als die ursprünglicheren und einfacheren zugleich werden bezeichnen dürfen, in dem Sinne, als die einfachsten, ersten Gallenrollen zu einer Zeit, da der Parasitismus der Aphiden sich erst zu entwickeln begonnen hatte, eben aller Wahrscheinlichkeit nach revolutiv waren.

Der dorsalen Aktivitätszone entspricht eine ventrale Passivitätszone, sie ist, worauf schon R. Howard hingewiesen hatte, gegeben durch das Schwammparenchym, dessen Zellen sich nicht zu einem lückenlosen Verband schließen und so primär niemals die Rolle spielen können, die den Palisadenzellen zukommt. Grundbedingung für das Primärstadium ist eine nur schwache Förderung im Zellenwachstum; mächtige Hypertrophien und Hyperplasien dürfen wir hier nicht erwarten. Der ventralen Aktivitätszone entspricht eine dorsale Passivitätszone; sie ist bei kleineren Gefäßbündeln, deren dorsale Aktivität gering ist, oder ganz fehlt, unmittelbar über den Nerven gelegen, bei größeren mit eingeschalteter dorsaler Entwicklungsförderung des Nervenparenchyms zu beiden Seiten desselben zu suchen (Fig. 25). Diese

Orientierung, die unmittelbar im normalen Blattbau ihre Begründung hat, da Zellenverbände, deren Zellen lückenlos oder fast lückenlos aneinander-schließen, primär zu Aktivitätszonen prätestiniert sind, zu Aktivitätszonen, die wir also im normalen Blatte schon als latent vorhanden annehmen müssen, zeigt vor allem einen beständigen Wechsel im Überwiegen der beiden Blattseiten und ist die unmittelbare Ursache dafür, daß, wie sich Molliard ausdrückt, solche Gallen, von außen betrachtet, wie die Außenfläche des Gehirns eines höheren Vertebraten aussehen (aspect cérébroïd). Wir müssen demnach in jedem Blatte, dessen Mesophyll in Palisadengewebe und Schwammparenchym differenziert ist, von vorneherein eine analoge Verteilung latent bleibender Aktivitäts- und Passivitätszonen, Zonen latenten Über- und Untergewichtes, annehmen, deren Gleichgewicht noch durch nichts eine Störung erfahren hatte, deren Mobilisierung im Primärstadium aber nicht zur Vernichtung der einen oder anderen Aktivität führt, sondern beide nebeneinander, gewissermaßen im Kampfe miteinander zeigt, bis schließlich die in der normalen Entwicklung mächtigere Dorsale, nachdem das Palisadengewebe auf eine viel größere Ausdehnung einen zusammenhängenden Mantel im Blatte darstellt, die endgültige Rollungsrichtung bestimmt. Es erscheinen also, wie gesagt, die revolutionären Gallen einfachster Art zugleich als die ursprünglichsten, bloß vom pflanzenphysiologischen Standpunkt aus beurteilt, und hier ganz abgesehen von der Lage der saugenden Tiere. Ob es analoge Gallen gibt, die bei ähnlichem Bau involutiv sind, wissen wir nicht. Jedenfalls aber werden wir in den Sekundärstadien noch Fälle kennen lernen, die sich direkt auf die Involutivgallen des Primärstadiums zurückführen lassen.

**Sekundärstadium.** War durch den Gallreiz überhaupt die Auflösung der Aktivitätszonen zustande gekommen, so kommt es als Folge der Intensität, bzw. der spezifischen Wirksamkeit des Gallengiftes, bzw. einer spezifischen Reaktivität der Pflanze auf jenes im zweiten Stadium zur vollständigen Unterdrückung der einen und ausschließlichen Betätigung der anderen Aktivitätszone, gleichgültig zunächst, ob die Rollung nach oben oder nach unten stattgefunden hatte. Wird die ventrale Aktivität unterdrückt, so verschwindet zunächst die hirnartige Beschaffenheit der Oberfläche (vergleiche die Randpartie der Galle des *Prociphilus xylostei*!), die Blattnerven haben ihre ventrale Aktivität eingebüßt, während die dorsale sich in gleichmäßiger Ausdehnung über die ganze Oberfläche erstreckt, was wir am schönsten an der *Fraxinus* galle realisiert gefunden haben. Verschiedene Unregelmäßigkeiten, Wellungen des Rollungsverlaufes im Querschnitte, tun diesem Prinzip in keinerlei Weise Abbruch. Auch die *Aphis oxycantha* galle ist ein schönes Beispiel, obwohl sie noch deutliche Übergänge zum Primärstadium erkennen läßt, in dem vereinzelt größere Nerven die charakteristische Ziehung nach innen beibehalten haben. Aber auch die *Prociphilus xylostei* galle zeigt in der Randzone schon Übergänge zum Sekundärstadium, in dem zwar die ventrale Aktivität zur Entwicklung kommt, jedoch durch eine gleichwertige dorsale paralysiert wird, mithin nicht mehr zur Geltung kommt. Ich möchte diese stärkere Betonung der Aktivität dorsalen Nervenparenchyms übrigens ebenfalls schon für eine sekundäre Veränderung erklären, die schließlich auf die Schaffung eines einheitlichen dorsalen Mantels von Bewegungsgewebe abzielt.

Mit Rücksicht darauf, daß nach Unterdrückung der ventralen Aktivität dem dorsalen Bewegungsgewebe kein Hindernis mehr im Wege steht, dieses sich aber in letzter Linie gleichmäßig über Mesophyll und Nerven ausbreitet, ist die Einrollung im allgemeinen eine kontinuierliche, etwa eine spiralige Einrollung eines Zylindermantels; und ich möchte daher solche Gallen, die keine scharfen Kanten aufweisen und zugleich revolutiv sind, als Zylindergallen des Sekundärstadiums bezeichnen. Hierher zu zählen wäre auch die Blattrollgalle, die *Gynaikothrips* auf *Vitis lanceolaria* verursacht.

Wird aber durch die spezifische Wirkung des Gallreizes die dorsale Aktivität unterbrochen und kommt die ventrale zur vollen Entfaltung, dann ergibt sich, mit Rücksicht auf die Beschränkung der letzteren auf die Blattnerven, auch eine Beschränkung in der Wirksamkeit dieses Bewegungsgewebes im Vergleiche zum analogen bei revolutiven Gallen. Die Aktivität kommt nur an den größeren Nerven zur Geltung, und werden die betreffenden Spreitenpartien winkelig nach oben gebogen (Fig. 25), ohne aber in letzteren selbst eine kontinuierliche Krümmung erzeugen zu können. Solche Gallen unterscheiden sich von den äquivalenten revolutiven dadurch, daß das ganze eher den Eindruck macht, als würde ein Prismenmantel wiederholt zusammengeklappt sein. Solche Gallen möchte ich daher als Prismengallen des Sekundärstadiums bezeichnen. Klassische Beispiele hierfür bietet: die Aphidengalle auf *Lonicera*, die *Prunus*-galle, namentlich im II. Typus, die *Thripsiden*-galle auf *Melastoma*, die *Dipteroecide* auf *Daphne lanceolaria*. Alle diese betrachteten Fälle haben zur Voraussetzung, daß das normale Blatt, vollkommen entwickelt, im Mesophyll die typische Differenzierung in Palisaden- und Schwammparenchym zeigt, welches letzteres sich nicht ohne weiteres und nicht rasch genug durch Hypertrophie oder Hyperplasie zu einem geschlossenen Gewebemantel umbilden kann; das Sekundärstadium ist, trotz vieler bedeutender anatomischer Veränderungen, nichts anders als die völlige Vernichtung der einen oder der anderen Aktivitätszone. Offenbar wohnt den Schwammparenchymzellen und jenem Meristem, aus dem diese sich entwickeln, bei Reizen, die Gallen entstehen lassen, welche nicht über das Sekundärstadium hinausragen, noch keine so weitgehende Entwicklungsfähigkeit inne, daß sie imstande wären, ähnlich vollkommen, wie das dorsal der Fall war, auch ventral die nervenfreien Partien durch aktives Bewegungsgewebe zu überbrücken.

Auch hier kann die Aphidengalle auf *Lonicera* als Übergangsstadium zum Primärstadium dienen, da Spuren von dorsaler Aktivität stellenweise nachweisbar sind (vgl. Fig. 29 B, C). Im übrigen sind beide Fälle, vor allem aber die *Prunus*-galle, klassische Belege dafür, daß die ventrale Aktivitätszone auf die Nerven beschränkt bleibt, auch dann, wenn durch Hyperplasie das übrige Mesophyll incl. dem prädestinierten Schwammparenchym umgewandelt worden ist. Das Auftreten eines ventralen, kontinuierlichen Gewebemantels hat also noch nicht die Ausbreitung der ventralen Aktivitätszone auf die gesamte untere Blattfläche zur unbedingten Folge (vgl. die *Prunus*-galle).

Völlig ungelöst muß vorläufig die Frage bleiben, wie sich Blätter hinsichtlich ihrer Aktivitätszonen verhalten, die schon im normalen Bau ein unvollkommen differenziertes Mesophyll, das heißt: kein in-

terzellularenreiches Schwammparenchym haben, dessen Zellen sich schon im unveränderten Blatte, wenn auch nicht so vollkommen, aber doch immerhin weitgehend, zu einem einheitlichen Hypodermismantel schließen, wie ich das für viele Liliaceenblätter gefunden habe (109) [l. c.]. Untersuchungen solcher Fälle in der Richtung, ob auch hier bei involutiven Gallen sich die Aktivitätszone auf das ventrale Parenchym der Nerven beschränkt, oder schon primär sich auf das ganze ventrale Hypodermalgewebe erstreckt, und so einen gesonderten Typus ergeben würde, sind dringend notwendig.

Als Tertiärstadium möchte ich jenes bezeichnen, bei dem an involutiven Gallen des Sekundärstadiums, wenn in der normalen Anatomie ein ventrales, an Interzellularen reiches Schwammgewebe vorhanden war, durch Hypertrophie usw. der ganze Mantel sich zu einem einheitlichen, aktiven Gewebe schließt. Ich betone: involutive Gallen, denn bei revolutiven Gallen, z. B. bei *Fraxinus*, bleibt dieser Umbau durch das Prävalieren eines einheitlichen, dorsalen Bewegungsgewebes wirkungslos, und bleibt dieser Fall nichts anderes, als eine der verschiedenen graduellen Abstufungen der revolutiven Zylindergallen des Sekundärstadiums. Als Beispiel für dieses Tertiärstadium diene die von R. Howard beschriebene Galle des 1. Typus, deren ventrale Nervelemente und das gesamte Schwammparenchym den Aufbau eines geschlossenen, ventralen Bewegungsgewebes besorgen; daraus aber resultieren (Fig. 25) wiederum Zylindergallen. Diese Zylindergallen des Tertiärstadiums sind jedoch involutiv und nicht zu verwechseln mit den revolutiven Zylindergallen des Sekundärstadiums.

Interessante Andeutungen zu einer solchen Ausbreitung der ventralen Aktivitätszone auf die Spreite finden sich beim 2. Typus der *Prunus*-galle, bei welcher an manchen Nerven (vgl. besonders den innersten der Rolle in Fig. 15) das Bewegungsgewebe weit in den nervenfreien Spreitenteil hinübergereicht hat. Wir können mithin sagen: Die Ausbreitung des Bewegungsgewebes der Dorsalseite erfolgt nervopetal (und ist die völlige Schließung desselben über den Gefäßbündeln bereits ein Phänomen des Sekundärstadiums), die Ausbreitung des aktiven Gewebes an der Ventralseite jedoch nervofugal. Eine vollkommene Ausbreitung hat in beiden Fällen Zylindergallen zur Folge, die im Sekundärstadium nur revolutiv sein können, da dort nur ein einheitlicher, dorsaler Mantel vorliegt, im Tertiärstadium aber involutiv sind.

Zum Tertiärstadium, das vorläufig nur ein provisorisches sein kann und aller Wahrscheinlichkeit nach späterhin, wenn wir mehr Untersuchungen hinter uns haben werden, manche Zergliederung und Spezifizierung erfahren wird, rechne ich vorderhand auch alle jene Veränderungen und das Auftreten aller jener aktiven Bewegungsgewebe, die in der normalen Anatomie nicht mehr begründet, sekundär schon verwischt sind und nun tertiär wieder lokal aufleben können, lauter Veränderungen, die wir nur an sehr abgeleiteten Rollgallen finden, die kaum mehr eine Spur vom normalen Gleichgewicht erkennen lassen, wie die stellenweise nach unten Krümmung im 1. Typus der *Prunus*-galle, an der von einem Palisadengewebe oder von einem einheitlichen, dorsalen, aktiven Gewebeverband keine Rede ist, und die doch lokal ein dorsales Übergewicht erkennen läßt, obwohl wir es anatomisch kaum mehr verfolgen können (vgl. Fig. 11 a und b, der rechte Flügel, c, am rechten Flügel nahe dem Mittelnerv, d bei den Ziffern 7 und 8).

Wie wir sehen, bilden die einzelnen, von mir beschriebenen Fälle zahlreiche Übergänge von einem Stadium zum andern. Für Vertreter des Tertiärstadiums halte ich: die *Eriophyes tetranichus* galle auf *Tilia silvestris*, *Perrisiagalle* auf *Tilia*, die Gallen von *Gynaikothrips chavicae* auf *Piper retrofractum* und anderer von *Docters van Leeuwen-Rijnvaan* an verschiedenen Orten behandelter Thysanopteren. Trotz der vielen Übergangsformen und Unregelmäßigkeiten, haben sich also aufs klarste bestimmte Entwicklungsstadien in der Bildung der Blattrollen erkennen lassen, deren erstes durch Erhaltenbleiben der beiden primären, in jedem Blatte latent vorhandenen Aktivitätszonen, deren zweites durch völlige Unterdrückung des einen zugunsten des anderen, deren drittes durch das Aufleben neuer, in der normalen Anatomie nicht begründeter, oder durch sekundäre Veränderungen schon getilgt gewesener Aktivitätszonen gekennzeichnet ist.

Auch die passiven Verknitterungen und die Vorwölbung der ventralen Epidermis möchte ich für etwas Ursprünglicheres halten. Die Vorwölbungen der Epidermis habe ich nur im Primärstadium gesehen. Die Verschiebungen in der *Fraxinus* galle (Fig. 18) sind nicht eigentlich als faltige Abhebung zu bezeichnen, denn letztere setzt eine intaktes Schwammparenchym voraus, das nur an bestimmten Punkten mit der ventralen Epidermis in Berührung steht, und letzterer eine gewisse Bewegungsfreiheit gestattet, während bei der *Fraxinus* galle das ganze Schwammparenchym, wie wir wissen, durch Hypertrophie zu einem kompakten Gewebemantel umgestaltet und nachträglich gründlich zerdrückt worden ist). Die Verknitterungen bestimmter Zellwände sind mir im Primär- und Sekundärstadium untergekommen, für das Tertiärstadium fehlt mir die Erfahrung. Maßgebend für diese Auffassung muß die Erwägung sein, daß, je früher die Blattgewebe in völlig neue Bahnen gelenkt werden, um so mehr jede neue Zelle sich nunmehr den neuen Korrelationen anpassen kann; je später diese Umbildung erfolgt, oder je weniger kräftig die Reizdirektive ist und je weniger sie alle Gewebe in den Bannkreis ihres „Willens“ zu ziehen vermag, um so mehr werden Widerstände zur Geltung kommen, Gewebespannungen und lokaler Überdruck, als deren Folgen Zerreißen bzw. Zerknitterungen auftreten müssen. Von der stärkeren Krümmung im Blattnerven abgesehen, möchte ich von diesem Standpunkte aus noch einmal die 1. mit der 2. *Prunus* galle vergleichen, deren sämtliche Gewebe unverkennbar eine neue Harmonie zeigen, weil hier offenbar jüngere Elemente beeinflußt worden waren, dort aber, wenigstens soweit der Mittelnerv in Betracht gekommen war, infolge der schon weiter getriebenen Entwicklung in einer der Gallbildung sicherlich nicht adäquaten Richtung mächtige Störungen in der Korrelation der Zellen eingetreten waren.

Insofern nun, als an älteren Geweben stets Gallen von geringerem Grade der Entwicklung auftreten, Gallen also, deren Gestalt und Bau vom Normalen weniger abweichen, können wir die Mittelnervregion der *Prunus* galle des ersten Typus als ursprünglicher auffassen, als die vergallten Nerven des zweiten Typus, die unfehlbar schon zum Tertiärstadium hinüberleiten. Auch die *Prociphilus xylostei* galle ist im Hauptteile der Blattspreite ursprünglicher als am Blattrande, dessen Zellen meristematischen Charakter und in ihrer pathologischen Entwicklung deutliche Übergänge zum Sekundärstadium zeigen. Die geringere Entwicklung pathologischer Verknitterungen usw. in den jüngeren Individuen, bzw. Teilen dieser

beiden Gallen sind zum guten Teile eine Folge rechtzeitiger Unterordnung der Gewebe unter neue Korrelationsverhältnisse.

Die hier geschilderten Rollungserscheinungen lassen sich auch mit den Faltungen gewisser Grasblätter nicht vergleichen (*Festuca*, *Stipa*, *Sesleria* u. a.). In den pathologischen Blattrollen sind die Bewegungsgewebe durchweg lebende Zellen, deren Turgor, vor allem aber deren Wachstumsgeschwindigkeitsdifferenz gegenüber der normalen Art und Weise, sowie auch Intensität der Einrollung bestimmt, während für die genannten Grasblätter nicht physiologische, sondern physikalische Ursachen, Kohäsionsmechanismen, herangezogen werden. *Haberlandt* (114) neigt p. 509 von den in der Literatur geäußerten Auffassungen der Anschauung *Steinbrincks* zu, daß es sich um Kohäsionsmechanismen handelt, die in den großen Epidermiszellen der Blattrinne und im Chlorophyllparenchym, dann aber auch in den inneren, weitleumigen Bastzellen ihren Sitz haben. Wenn *Kerner* (44) (l. c. Bd. I. p. 319) die Ansicht, daß die zartwandigen Epidermiszellen der Blattrinne durch ihre wechselnden Turgorverhältnisse allein schon die eigentümlichen Bewegungen der Blattspreite bedingen könnten, dadurch zu entkräften sucht und glaubt, daß solche Blätter auch dann die Faltungen zeigten, „wenn die den Grund der Rinne auskleidenden, dünnwandigen Zellen mittels feiner Nadeln künstlich zerstört würden“, so möchte ich ein solches Experiment für sehr unexakt und wenig beweiskräftig halten und die Rolle besagter Zellen doch nicht zu sehr unterschätzen. Die Funktion der mechanischen Zellen zu überschätzen, möchte ich ebenfalls warnen, weil für ausgiebige Bewegungen, wie sie die Blattrollen der Aphiden zeigen, sie sogar hinderlich sind, wie wir aus ihrer Vernichtung in den Rollen die Blattlausgallen als Voraussetzung und Grundbedingung für ein funktionsfähiges Bewegungsgewebe erschließen dürfen. Ein weiterer Unterschied, der einen direkten Vergleich der Grasblätter mit den Faltungen und Rollungen durch Aphiden verbietet, liegt schließlich darin, daß dort ein vorübergehendes Stadium eintritt, hier aber ein Dauerstadium, hier jugendliche Zellen, die als Gesamtheit noch wachstumsfähig sind und alle diesem neuen Prinzipie untergeordnet werden, dort aber im allgemeinen entwickelte Blätter vorliegen, die nur lokale, sehr eng begrenzte Einrichtungen haben können.

Welchen Einfluß die Blattläuse auf die Richtung und Intensität der hier geschilderten Veränderungen nehmen, in wieweit wir ihre Rolle als aktiv, die der Blätter als reaktiv auffassen dürfen, das bis zu einem gewissen Grade klarzulegen, soll im 3. Hauptkapitel versucht werden. Eine wesentliche und erst später zu entscheidende Frage wird auch die sein, ob alle Rollgallen diese Stadien durchlaufen müssen, oder ob die Aktivität des Gallreizes die Pflanze zu zwingen vermag, Zwischenstadien zu überspringen, und gleich mit abgeleiteten einzusetzen. Das Verhalten der *Prociphilus* galle scheint derzeit zugunsten der zweiten Möglichkeit zu entscheiden. Die Schwierigkeit einer einheitlichen Darstellung liegt schließlich auch darin, daß ein und dasselbe Pflanzenorgan, wie wir noch sehen werden, in verschiedenem Alter verschieden reagiert, so daß sich die Entwicklungsbedingungen der Gallen außerordentlich komplizieren.

Darüber, daß sich im Laufe späterer Untersuchungen noch zahlreiche Schwierigkeiten ergeben werden, und daß sich mit meinem Entwicklungsschema bei der Mannigfaltigkeit der von der Natur gebotenen Formen für

<sup>114)</sup> *Haberlandt*, G., Physiologische Pflanzenanatomie. 4. Aufl. Leipzig 1909.



vieles derzeit noch keine Einordnungsmöglichkeit gefunden hat, bin ich mir vollkommen klar. Ich weiß auch, daß sich im Laufe der Zeit manches als korrekturbedürftig herausstellen wird, und betrachte meinen Erklärungsversuch als ersten Schritt auf diesem eminent wichtigen Kapitel der Entwicklungsmechanik der Pflanze; es wäre nur wärmstens zu wünschen, daß andere Forscher an diesen Problemen mitarbeiten, unbekümmert darum, ob meine Anschauungen sich zur Genüge oder nur zum Teile als richtig herausstellen werden, damit wir im Interesse der Wahrheit und richtigen Erfassung der Naturerscheinungen auch in die kompliziertesten Fälle Klarheit bringen können.

### Aetiologie der Blattlausgallen.

Die bisherigen Betrachtungen haben den Weg veranschaulicht, den das Blatt gehen muß, um zur Rollgalle zu werden, die dabei zutage tretenden Gesetzmäßigkeiten aufgezeigt und das Wesen der Blattrollung als ein der Hauptsache nach pflanzenphysiologisches Problem erkennen lassen. Diese Erkenntnis führt uns aber nicht über die Notwendigkeit hinweg, nach der ersten Ursache, nach dem ersten Anstoße zu fragen, der dieses abnorme, wenn auch in der Entwicklung der Pflanze potentiell gegebene, Wachstum ausgelöst hat, und nach den Kräften zu forschen, die kontinuierlich wirken müssen, um gewissermaßen den Rahmen für die pathologische Entwicklung vorzuzeichnen und zugleich für jede einzelne Zelle deren Übertritt in eine normale Weiterentwicklung zu verhindern, ein Faktum, das für Gallen, die vorzeitig vom Erreger verlassen worden sind, bekannt ist. Damit hat sich für die *Tetraneura ulmi* gallen besonders Molliard (70) [l. c.] beschäftigt und Blattpunkte beschrieben, die vorübergehend vom Insekt in Anspruch genommen worden waren, und welche „ont acqui de ce fait certains caractères des galls, tels que l'augmentation du nombre des assises, l'abondance des poils, mais que le parasite a rapidement quittées; il en résulte qu'une différenciation ultérieure a pu se produire et qu'on peut reconnaître la formation de cellules palissadiques et d'un tissu légèrement lacuneux; les stomates restent localisés à la face inférieure. L'épaisseur de ces régions est d'ailleurs essentiellement variable et dépend évidemment de l'époque à laquelle le Puceron a cessé d'agir.“ Nur die kontinuierliche Wirkung des Gallenreizes vermag also dem Blatte eine pathologische Entwicklungsrichtung dauernd aufzuzwingen, sein Aussetzen bedeutet die völlige Freigabe der Gewebe seitens des fremden Einflusses und zugleich das Durchdringen der normalen Entwicklungstendenz des Blattgewebes. Es ist denkbar, daß auch die von mir für die *Prunus* gallen beschriebene, lokal abnorme Entwicklung des Durchlüftungsgewebes mit Punkten zusammenfällt, die unter geringerem Einflusse des Gallreizes standen und zum Teil eine normale oder der normalen ähnliche Entwicklung durchzusetzen vermochten.

### Vernation.

Wenn wir zunächst nach Erscheinungen suchen, die vom Parasiten unabhängig sind, und möglicherweise für die Gallbildung oder, genauer gesagt: pathologische Blattrollung von Einfluß sein könnten, so wird fürs erste auffallen, daß alle diese vergallten Blätter in ihrer Entwicklung zweimal eine solche, von der normalen Spreitengestaltung abweichende morphologische Beschaffenheit haben, einmal in ihrer frühesten Jugend vor ihrer Ent-

faltung und dann nach der Galleninfektion. Das führt zum Vergleiche der Vernation mit der Rollgallenbildung als möglicherweise kausal zusammengehöriges Phänomen, in dem Sinne, daß die pathologische Blattrollung eine Beibehaltung der Knospenlage, mithin durch letztere gewissermaßen vorbereitet sein könnte, so daß wir in der Rollgalle eine gestaltliche Beeinflussung durch das Stadium der Knospenlage erblicken könnten, mithin die Vernation als Teilursache für eben diese Rollgalle anerkennen müßten.

An diese Möglichkeit hat auch Küster gedacht (54) [l. c. p. 141]: „In den einfachsten Fällen wird eine durch den Parasiten bedingte Hemmung des Wachstums bereits genügen, um das Zustandekommen der Gallen zu erklären. Bei der von *Eriophyes alpestris* auf *Rhododendron ferrugineum* erzeugten Galle entspricht die Plastik des gerollten Blattes

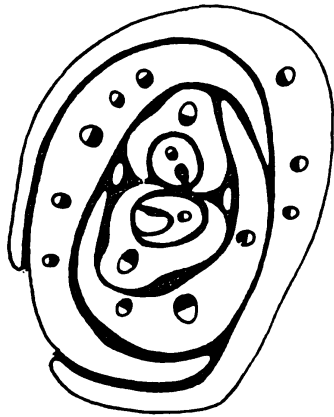


Fig. 26.

im wesentlichen der Knospenlage. Ob lokal einseitige Hemmung des Flächenwachstums, welche der Parasit an der von ihm besiedelten Seite des Blattes hervorzurufen vermag, ausreicht, um auch revolute Rollungen, das heißt solche, welche der Knospenlage zumeist widersprechen, bedarf näherer Untersuchung.“

Auf den Gedanken, die Vernation als aktiven Faktor der Rollbildung gelten zu lassen, so daß die Knospenlage die Gestalt der künftigen Galle bestimmt und der Parasit nur insoweit aktiv auftritt, als er die Verwischung der Knospenlage durch die normale Weiterentwicklung des Blattes verhindert, sind mehrere Forscher gekommen. A. Y. Grevillius (27) [l. c.] fand für die vergallten *Polygonum convolvulus*blätter, daß sie aus der revolutiven Knospenlage nicht vollständig in die definitive ausgebreitete Lage ausgewachsen sind, und hebt an anderer Stelle (26) [l. c.] hervor, daß bei *Thysanopterencecidien* auf *Vicia cracca* L. manchmal das ganze Blättchen von der Wachstumshemmung betroffen wurde, und die nach oben gefaltete Knospenlage beibehalten hatte. Auch J. und W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (21) [l. c.] haben gefunden, daß sich das Blatt von *Piper* durch *Thripsiden*infektion nicht auseinanderrollt. Die genannten Autoren halten also die Möglichkeit fest, daß involutive (Küster), bzw. auch revolute (Grevillius) Rollgallen, soweit sie gestaltlich mit der Knospenlage annähernd übereinstimmen, nichts anderes als die Permanenz des temporären Knospenstadiums darstellen.

Betrachten wir unsere Aphidiocecidien genauer. Nach R. Diez (13) ist die Knospenlage für *Pirus malus* „bei angedeuteter einfacher Faltung, übergerollt, meist deckend“. Die Blätter sind mehr oder weniger geschwungen (Fig. 26) nach oben geworfen, die jüngeren Blätter werden meist von den älteren mit den Rändern umfaßt. Eine Überrollung habe ich allerdings nicht gesehen. Mit diesem Verhalten stimmt auch die *Prunus domestica*-Vernation überein. Mit Ausnahme der jüngsten Blätter, deren Ränder sich nicht berühren, greifen bei *Lonicera* die Ränder der einzelnen Blätter so übereinander, daß jedes Blatt mit dem einen Rand ein anderes deckt, mit dem andern aber von diesem gedeckt wird. Diez nennt diese

<sup>13)</sup> Diez, R., Über die Knospenlage der Laubblätter. (Flora. Jg. 70. 1887. p. 483, 499, 515.)

Knospenlage zwischengerollt, mit wechselseitig schwach übergreifenden Rändern. Bei *Fraxinus* sind sämtliche Fiederblättchen, wie auch *Diez* angibt, zusammengesetzt, mit scharfem Knie um den Mittelnerv nach oben geschlagen, etwa so wie bei der *Prunus*galle des I. Typus.

Wie verhalten sich dazu die Rollgallen? Auf den Blättern von *Pirus malus* sind beide Gallen revolutiv, stehen mithin in diametralem Gegensatz zur Vernation; für die *Fraxinus*galle gilt dasselbe. Die *Prunus*galle ist zwar involutiv gleich den jungen Blättchen. Jedoch ist von irgendwelcher Regelmäßigkeit keine Rede. Der Umstand, daß beide Gallen, die eine mit in Mitleidenschaft gezogenem Mittelnerv, die andere mit solchem Blattrande, so sehr gestaltlich voneinander abweichen, schließt nachgerade aus, eine Beziehung zur Vernation gelten zu lassen, und dies um so mehr, als wir eine ganze Reihe von anderen Aphidengallen für *Prunus* kennen, die revolutiv sind, somit jeden Gedanken an einen Zusammenhang mit der Vernation ausschalten. Bleiben noch die beiden *Lonicera*gallen zur Diskussion. Die *Prociphilus*galle ist revolutiv, verbietet daher jeden Vergleich, die Aphidengalle dagegen könnte zur Vernation in Beziehung gebracht werden, obwohl sie anatomisch stärkere Vergallung zeigt, als die aus der Knospenlage völlig abgelenkte *Prociphilus*galle, für die wir auf einen solchen Vergleich haben verzichten müssen. Auch die Autoren, die an eine bestimmte Rolle der Vernation bei der Rollgallenbildung gedacht haben, haben nicht verkannt, daß trotz der Ähnlichkeiten große Unregelmäßigkeiten auftreten; so sind die Blätter von *Polygonum convolvulus* L. gedreht, gekräuselt, mit nach oben, ähnlich der *Prociphilus*- und *Aphis pomigalle*, zwischen den Rippen ausgestülpten Spreitenpartien [*Grevillius* (27)]. An der *Thysanopterengalle* auf *Vicia cracca* ist überdies eine unregelmäßige Krümmung eingetreten [*Grevillius* (26)], und an der *Thysanopterengalle* auf *Piper* sind die beiden Blathälften verschieden stark infiziert, so daß ihre Lage gegenseitig schon eine verschiedene ist [*J. und W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan* (21)].

Ganz abgesehen davon, daß es, meines Erachtens, eine mißliche Sache ist, nur für solche Gallen die Vernation als ursächlichen Faktor heranzuziehen, welche zufällig in ihrer Gestalt mit der Knospenlage übereinstimmen, und für alle anderen überwiegenden Fälle, deren Betrachtung eine solche Möglichkeit von vorneherein ausschließt, nicht, mithin für ein und dasselbe Phänomen nach zwei ganz verschiedenen Erklärungsweisen zu greifen, möchte ich fragen: Was heißt es: Die Knospenlage bleibt erhalten? Da unter allen sechs von mir untersuchten Gallen nur die Aphidengalle auf *Lonicera* in Betracht kommen könnte, muß ich mich hierbei an diese halten. Das Blatt befindet sich im Zustande der Knospenlage noch in einem meristematischen Zustande, die Gewebe sind unfertig, kaum differenziert, die Zellen vor allem auch durchschnittlich kleiner, als in dem später entwickelten Blatte. Nehmen wir nun aber für das Erhaltenbleiben der Knospenlage durch den Gallreiz als Wirkung auf die Pflanze nur Hemmungen an, so wäre das entweder so zu verstehen, daß alle Zellen vom Augenblicke der Infektion an ihr Wachstum eingestellt haben, mithin das Blatt in seiner Größe auf dem Jugendstadium bleibt, oder aber, alle Zellen erfahren vom Augenblicke der Infektion an nur mehr eine gleichmäßige Wachstumsförderung, bis schließlich die nötige Differenzierung im Blattgewebe eingetreten ist; die die Knospenlage ausgleichenden Wachstumsdifferenzen bis zur fertigen Entwicklung der auseinandergelegten Blattspreite blieben mithin aus.

Diese Permanenz der Wachstumshemmung im Sinne der Knospenlage dürfte aber dann höchstens zur Folge haben, daß die dorsalen Zellen kleiner sind, die ventralen aber eventuell die normale Größe und Entfaltung erreichen, nicht aber über diese hinausragen, weil wir ja annehmen müssen, daß im Falle des Aufhörens des Gallenreizes sich immer noch ein solches Blatt auseinanderlegen könnte und durch den Ausgleich im Wachstum der dorsalen Zellen schließlich einen anatomischen Bau annehmen müßte, der vollkommen dem normalen Blatte entspricht. Nie und nimmer aber ist es vorstellbar, daß die ventralen Nervenparenchymzellen größer sein können, als im normalen Blatte, weil ein solches Blatt ohne entsprechende Hypertrophie, und zwar absolute Hypertrophie bezw. Hyperplasie entsprechender Zellen der Dorsalseite nicht mehr imstande sein könnte, die normale Spreitenlage zu gewinnen. Es dürfte sich demgemäß das ventrale Nervenparenchym, von der Verdickung der Zellwände vielleicht abgesehen, sonst in nichts vom normalen unterscheiden. Vergleichen wir aber die beiden Figuren 20 a und 20 b, so ergibt sich sofort der große Unterschied im Zellengefüge, daß die Hypodermalzellen größer sind als die tieferfolgenden, im vollen Gegensatze zum normalen Blattbau, mithin hier eine Entwicklung Platz gegriffen hat, die von der normalen abweicht und auf die Schaffung eines typischen Bewegungsgewebes hinausläuft, dessen Bedeutung wir oben bewiesen haben.

Ich habe diese Galle in ihrem ersten Stadium leider nicht gesehen; das Auftreten eines solchen Bewegungsgewebes scheint mir aber mit viel Wahrscheinlichkeit dafür zu sprechen, daß das Blatt zur Zeit der Infektion schon auseinandergelegt und erst nachträglich wieder zusammengerollt worden war. Immerhin aber, angenommen, es wäre die Gallengestalt direkt von der Knospenlage übernommen worden, müßte auch die Hypoplasie der Dorsalseite, die ja offenbar allein als Hemmung zu denken ist, eine regelmäßige sein; die Zellen dürften sich vom normalen Blattbau nur durch ihre Größe unterscheiden, eventuell dürfte das ganze Gallengewebe einen durch die unterbundene Differenzierung bedingten meristematischen Charakter beibehalten haben, also die Permanenz eines temporären Stadiums zeigen. Die Anatomie hat jedoch gezeigt, daß das Zellengefüge außerordentlich unregelmäßig ist, dorsal wie ventral treten Zellen auf, die nur einem pathologischen, aus der normalen Entwicklung abgelenkten Wachstum ihre Entstehung verdanken können; die Palisadenzellen sind zwar bedeutend kürzer als im normalen Gewebe, nicht selten aber zugleich viel breiter und gestalten sich den Epidermiszellen ähnlich. Gleichzeitig sind die Schwammparenchymzellen stark verändert; sie sind häufig viel größer als im normalen Blatte, dorsal wie ventral treten also Überentwicklungen auf, die uns lehren, daß hier keine bloße Übernahme eines früher oder später ausgleichfähigen Jugendstadiums vorliegt. Die im zweiten Hauptkapitel abgeleiteten und auch für diese Galle bewiesenen Gesetzmäßigkeiten lassen vielmehr erkennen, daß diese Galle aus pathologisch-anatomischen Gründen diese Gestalt angenommen hat, annehmen mußte, gleichgültig, ob die Knospenlage nun so oder anders ausgesehen haben mochte.

Überdies scheint mir die Behauptung: die besagten Gallen sind nichts anderes als die Fortführung oder Beibehaltung der Knospenlage, wenig zu erklären. Denn da die Knospenlage ein temporäres Stadium ist, müssen, da das Blatt weiter wächst, unbedingt neue Kräfte, die durch den Gallenreiz aktiviert werden, auftreten, die die weitere Entwicklung bestimmen; es müssen, nachdem die Gewebe eine weitere Differenzierung erfahren, un-

bedingt Aktivitätszonen, Bewegungsgewebe, auftreten, die in dem Falle die Ausbreitung der Spreite in die Flächenlage verhindern, also im Grunde dasselbe leisten, wie die Bewegungsgewebe der Blätter, die durch die Vergallung aus der Flächenlage zur Rolle umgewandelt werden. Es mag der Weg vielleicht einfacher sein; es ist denkbar, daß solche Gallen weniger Widerstände in ihren Geweben zeigen und vielleicht weniger passive Veränderungen erleiden als andere.

Könnte oder sollte die Vernation irgendeine aktive Bedeutung haben, so dürften sich in solchen Gallen gar keine progressiven Veränderungen zeigen, die Gewebe dürften also gar nicht von irgendeinem normalen Entwicklungsstadium des betreffenden Blattes abweichen. Und es wäre nahelegend, daß sich gerade solche Gallen bei Läusen finden müßten, deren Reizaktivität in den Pflanzen keine stärkeren Veränderungen hervorzurufen vermag, wie z. B. die *Aphis pomi*, deren beide von mir untersuchten Gallen im wesentlichen mit bestimmten Entwicklungsstadien der normalen Apfelblätter übereinstimmen (Fig. 2). Und was zeigt sich? Gerade diese einfachste aller Gallen, deren Erreger bekanntlich gerade die jüngsten Blättchen anzugreifen pflegen, macht uns einen unliebsamen Strich durch die Rechnung; sie kehrt sich gar nicht an die Knospenlage, sondern verhält sich zu ihr genau umgekehrt.

Vermöchte schon diese Blattlaus, der wir die geringste Reizaktivität zusprechen müssen, das durch die Knospenlage gegebene temporäre Gleichgewicht über den Haufen zu werfen, um wieviel mehr müssen wir diese Fähigkeit jenen anderen Aphiden zusprechen, die so gewaltige pathologische Veränderungen und die Bildung mächtiger und eigenartiger Bewegungsgewebe im Gefolge ihres Parasitismus eintreten lassen. Die einfachsten Gallen haben versagt, und wenn wir die komplizierteren heranziehen, z. B. die *Prunus*-galle, die wenigstens in den größten Zügen an die Knospenlage erinnert, so haben wir bei näherem Zusehen auch gar kein Recht mehr, irgendeine aktive Bedeutung der Vernation gelten zu lassen. Überdies können wir den Erregern der Aphidengalle auf *Lonicera*, die anatomisch stärker vom normalen Blattbau abweicht, als die *Prociphilus xylostei*-galle, keine geringeren Fähigkeiten zusprechen als der letzteren Blattlaus, deren Galle hinsichtlich der Rollung das Gegenteil der Knospenlage zeigt.

Wir werden daher gut tun, gleichgültig ob die Infektion vor oder nach erfolgter Aufrollung des Blattes erfolgt war, in allen Fällen zuerst den anatomischen Bau zwischen Gallen und gesundem Blatte gründlich zu vergleichen und nach den Bewegungsgeweben zu suchen, ehe wir, im Falle der Übereinstimmung der Knospenlage mit der Gallrollung, jener voreilig irgendeine kausale Bedeutung für letztere beimessen.

### Jugend des Pflanzengewebes.

Nicht zu verwechseln mit dieser vermeintlichen Bedeutung der Knospenlage ist die Jugend des Pflanzengewebes als Grundlage für eine höchstmögliche Reizreaktivität auf Gallenreize an und für sich. War man dort bemüht, eine Beeinflussung der Rollungsrichtung der Galle durch frühere morphologische Stadien der normalen Ontogenie, also gewissermaßen eine Gegenüberstellung von pflanzlicher und tierischer Aktivität, zu konstruieren, so handelt es sich hier um eine gesteigerte Reizempfindlichkeit der Pflanze als Reaktivität gegenüber der Aktivität des tierischen Reizes. Schon L. Courchet (9) [l. c.] hatte, p. 19, den Einfluß der Jugend von Blättern auf den Grad

der pathologischen Veränderungen für Blattlausgallen aufgezeigt: "elles y sont d'autant plus sensibles qu'elles sont plus jeunes et que leur parenchyme est plus turgide". H. F. K e ß l e r (45) [l. c.] fand eine Verholzung der Gallen, also eine Steigerung in der abnormalen Entwicklung der *Pemphigus spirothecae* galle, dann, wenn die Infektion möglichst früh, schon vor dem Austreiben der Blätter erfolgt war. Für Thripsiden liegen ähnliche Beobachtungen vor. Namentlich wird der hohe Einfluß der Blattjugend auf den Grad der Vergallung für *Ficus retusa*, *Piper Betle* durch *Gynaikothrips chavicae*, *Aporosa microcalyx* durch *Dolerothrips trybomi* ausdrücklich betont [H. K a r n y und J. D o c t e r s v a n L e e u w e n - R i j n v a a n (42) [l. c.], J. und W. D o c t e r s v a n L e e u w e n - R i j n v a a n (14) [l. c.].

Der Umstand, daß in der Mehrzahl der Fälle die Blattläuse überhaupt nur an jungen Blättern vorkommen, ältere jedoch nicht mehr infizieren, indem sie dann auf andere Pflanzen übergehen u. s. f., erschwert die Beurteilung allerdings bedeutend, weil wir keine Kontrollversuche haben und für viele Fälle nicht wissen können, ob solche Blätter nicht doch, wenn eine Infektion stattfände, eine gewisse Reaktivität besäßen. Und in diesem Sinne kommen uns die Beobachtungen von J. H. L. F l ö g e l (22) über die Johannisbeerenblattlaus zu Hilfe. Die erste, im Frühjahr erfolgende Infektion, bei welcher die Stammutter das Blatt ansticht, wo dieses aus der Knospenhülle hervortritt, also in einem Zeitpunkt, da die Zellengewebe noch sehr jung, streckungs- und teilungsfähig sind, führt zu roten, beulenartigen Gallen, die bis zum Herbst bestehen bleiben. Im Juni aber werden die Blätter kaum merklich zurückgerollt, es finden sich keine Anzeichen einer derartigen Beulenbildung. Auch L. D i e l s (12) [l. c.] verdanken wir ähnliche Angaben für die Reaktivität verschieden alter Pflanzen gegenüber der Reizaktivität der *Siphocoryne xylostei*; Alter und Grad der Vergrünung stehen zueinander in umgekehrtem Verhältnisse. Solche Beobachtungstatsachen zeigen, daß junge Blätter anders und vor allem viel lebhafter reagieren als ältere. Daß sich eine ähnliche Differenzierung an Blättern zu erkennen gibt bei Giftwirkungen und mechanischer Verwundung, haben neuerdings L. M. M a r x (65) [l. c.] für die Behandlung mit Ammoniumkupferkarbonat und Sublimat, für Verwundungen verschiedener Art *Buscacalioni* und *Muscacalioni* (5) [l. c.] gezeigt: Im allgemeinen gilt die Regel, daß stärker differenzierte Gewebe weniger geeignet sind „a subire delle modificazioni o a ritornare allo stato giovane, donde la rarità di produzioni a tipo prettamente epidermico o di natura vascolare.“

Es entsteht nun die Frage: wo liegt die Grenze, wann ist, um mit H e r b s t (34) zu sprechen, „der Verlust der morphogenen Reizbarkeit mit zunehmendem Alter“ vollzogene Tatsache? Der seinerzeit von T h o m a s (97) (100) aufgestellte Satz, daß die Gallbildung nur möglich ist „solange der betreffende

<sup>22)</sup> F l ö g e l, J. H. L., Monographie der Johannisbeerenblattlaus, *Aphis ribis* L. (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 1. 1905. p. 49, 97, 145, 209, 233.)

<sup>34)</sup> H e r b s t, C., Über die Bedeutung der Reizphysiologie für die kausale Auffassung von Vorgängen in der tierischen Ontogenese. (Biol. Centralbl. Bd. 15. 1895. p. 721, 753, 792, 818, 849.)

<sup>97)</sup> T h o m a s, F., Zur Entstehung der Milbengallen und verwandter Pflanzenauswüchse. (Botan. Zeitg. Bd. 30. 1872. p. 284.)

<sup>100)</sup> T h o m a s, F., Eine Bemerkung zu Julius Sachs'schen Notizen, den Fundamentalsatz der Cecidiologie betreffend. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 16. 1898. p. 72.)

Pflanzenteil noch in der Entwicklung begriffen ist“, ist etwas zu allgemein und gibt uns über den Grad der anatomischen Veränderungsmöglichkeit im Grenzgebiete keinen Aufschluß.

C. H o u a r d (36) [l. c.] ist für die *C o p i u m* galle auf *T e u c r i u m* zur Überzeugung gelangt, daß „tous les tissus sont capables d'évoluer dans le même sens, sous l'influence d'actions parasitaires, tant que la différenciation de leurs cellules n'est pas commencée, c'est-à-dire aussi longtemps que ces cellules sont susceptibles de croître.“ Von der contradictio in adjecto abgesehen — denn Wachstum ist mit dem Beginn der Differenzierung noch nicht erloschen — zeigt ein Vergleich mit den Blattlausgallen, daß keineswegs nur meristematisches oder, um den geläufigen Ausdruck zu gebrauchen, „embryonales“ Gewebe Gallreizen gegenüber reaktiv ist. Wir haben an der *Prociphilus xylostei*- und *Aphis pomi*-Galle gesehen, daß, obwohl die histologische Differenzierung bereits perfekt war, dennoch das ganze Gewebe der Vergallung anheim fiel, freilich in geringerem Grade als an anderen Gallen. Dieser geringere Grad ist aber nicht immer und ausschließlich, z. B. für die *Aphis pomi* galle, auf das Konto der vorgeschrittenen Differenzierung zu setzen, denn die zweite, viel jüngere Apfelblattgalle zeigte ebensowenig eine weitergehende Ablenkung aus der normalen Entwicklung, obwohl die Zellen durchwegs embryonalen Charakter zeigten, und verhielt sich zur normalen Blattgestalt dieser Aktivstufe genau so, wie die ältere *Aphis pomi* galle zu Blättern gleichen Alters. Mit anderen Worten: das stärker differenzierte Blatt war vom Gallenreiz nicht weniger in Mitleidenschaft gezogen worden, als das durchwegs noch auf meristematischer Stufe stehende. Die schon eingetretene Differenzierung in Palisaden- und Schwammparenchym hatte die Bildung pathologischer Bewegungsgewebe nicht verhindern können. Andererseits steht fest, daß der jüngere Blattrand der *Prociphilus* galle auf *Lonicera* schon zum Sekundärstadium hinüberleitet, also offenbar infolge seiner geringeren Gewebedifferenzierung einer stärkeren Vergallung unterworfen werden konnte, als die übrige Blattspreite. Daß auch die *Prunus* galle, die wir als die am weitesten abgeleitete kennen gelernt haben, nicht mehr aus dem jüngsten Gewebe hervorgegangen war, beweist einmal der hohe Grad in der Entwicklung des Mittelnerven — eine völlig normale Weiterentwicklung der Gefäßbündelelemente, während gleichzeitig das ganze umliegende Gewebe den stärksten Vergallungsprozessen unterworfen war, mithin eine sehr frühe Infektion, halte ich unter Hinweis auf die Blattnerve der *Aphis oxycanthae* und der *Fraxinus* galle für nicht wahrscheinlich — und in Verbindung damit der bedeutendere Umfang passiver Veränderungen am Gefäßbündel, und dann die Fig. 16, in welcher Zellen des definitiven Parenchyms, die normalerweise nicht mehr in Teilungen übergegangen wären, sich pathologisch weitergeteilt haben, so daß diese Zellen nicht durch einen kontinuierlichen Wachstums- und Teilungsprozeß aus einem embryonalen Gewebe hervorgegangen waren, sondern nach Einschaltung eines Ruhestadiums, während dessen Teilungen aufhörten und die gleichzeitige Differenzierung von Interzellularräumen einsetzte. So ließen sich die Beispiele vermehren, die da zeigen, daß der Vergallungsprozeß nicht mit dem Beginn der Differenzierung seine obere Grenze hat; interessant wäre es schließlich, zu untersuchen, worauf die leichte Krümmung, die Flügel an den Blättern der Johannisbeere durch die Juniinfektion, also zu einer Zeit längst vollendeter Gewebedifferenzierungen, beobachten konnte, beruhen würde. Solche Blatt-

krümmungen nicht den wirklichen Gallen zuzuzählen, wäre inkonsequent. In Besprechung der Gallen von *Macrosiphon solani* auf Kartoffelblättern meint Küster (54) [l. c. p. 252] zwar, es wären das freilich „nicht Gallen von charakteristischen Eigenformen, sondern nur Blattkräuselungen und -verbiegungen“, doch wissen wir, daß solche Gallen sich von typischen Rollgallen nur durch den verschiedenen Grad der Aktivität bestimmter Bewegungsgewebe unterscheiden, also nichts anderes als einfachere Stufen einer und derselben Entwicklungstendenz darstellen. Mit demselben Rechte könnte man in die Gallennatur der *Aphis pomi* blattverkrümmungen Zweifel setzen; das hieße aber nichts Geringeres tun, als den Schlüssel für das Verständnis der Entwicklungsmechanik sämtlicher Blattrollgallen aus der Hand geben.

Als Beispiel dafür, daß selbst aus Dauergewebe Gallen hervorgehen können, führt Küster (54) [l. c. p. 252] die von Hartig (33) beschriebene *Adelges fagigalle* an und hilft sich, um den Satz von Thomas zu stützen, damit, zu erklären, daß diese Gewebe eine Art Callus darstellen, welcher sich an diesen allgemeinen Satz nicht bindet und daß es hauptsächlich die prosoplasmatischen Gallen seien, für die der Satz von der Abhängigkeit vom meristematischen Zustande der Gewebe gilt, denn mit der Betonung, daß bisher keine prosoplasmatischen Gallen bekannt seien, welche gegen ihn verstoßen, gibt er tatsächlich die Kataplasmen preis. Da aber fast alle Blattlausgallen zu den Kataplasmen gehören, deren Zellen mehr oder weniger callus-ähnlich sind, wäre die naturgemäße Folge, für diese Gallen die Abhängigkeit von der Jugend des Wirtsgewebes zu leugnen, was aber keineswegs zutrifft. Die oben zitierten und zergliederten Fälle lassen unzweideutig erkennen, daß junge Blätter stärker verändert werden als alte, soweit die Intensität und nicht die Richtung der Veränderungen in Betracht kommt. Eine so scharfe Auseinanderhaltung der Proso- und Kataplasmen würde überdies das Problem verwirren, weil wir dann möglicherweise für die *Pemphigus spirothecae* und *P. semilunariusgalle* andere Prinzipien gelten lassen müßten, als für die übrigen Aphidengallen. Der von Küster ausgesprochene Zweifel, ob sich die organoiden Gallen dem Satze von Thomas unterordnen, ist für Aphidiocecidien von L. Diels (12) [l. c.] behoben worden.

Ich möchte daher nicht, wie C. Howard es tut, den Augenblick der Gewebedifferenzierung als Grenzpunkt für die Möglichkeit von Gallbildungen gelten lassen, sondern die Grenze weiterziehen und, allerdings unter ausdrücklicher Betonung dessen, daß, je weiter vom Meristem weg, um so weniger energisch die Reaktivität, sogar eine Zeitlang nach erfolgter Differenzierung und Ausbildung dessen, was wir Dauergewebe nennen, den Blattzellen die Fähigkeit zusprechen, auf Gallenreize mit Wachstums-, ja mit Teilungsvorgängen zu antworten und namentlich die so interessanten, latenten Bewegungsgewebe zu mobilisieren. Dieser Auffassung entspricht zweifellos auch der Nachsatz bei C. Howard, denn die Fähigkeit, zu wachsen, ist diesen Zellen auch späterhin nicht völlig verloren gegangen. Auch für Hymenopterengallen gilt nach Magnus (64): je weiter die Determination der Zellen fortschreitet, um so größer ist der Widerstand gegen die Ablenkung aus der

<sup>33)</sup> Hartig, R., Die Buchenwollaus *Chermes fagi* Kltb. (Untersuch. a. d. Forstbotan. Institut. München. 1880. p. 156.)

<sup>64)</sup> Magnus, W., Die Entstehung der Pflanzengallen, verursacht durch Hymenopteren. Jena 1914.



normalen Entwicklungsbahn, und solche Hemmungen aufzuheben, ist der Gallenreiz im allgemeinen nicht mehr imstande. Des weiteren ist er der Ansicht, daß in jugendlichen, unentwickelten Organen die Hemmungen der Zellen durch korrelative Beziehungen zu den Nachbarzellen hinreichen, die Ausbildung einer höher organisierten Galle zu verhindern: „Wenigstens geht bei den komplizierten Hymenopterengallen stets eine umfassende Trennung der Gewebselemente der Gallbildung voraus.“

Von besonderem Interesse ist schließlich, was G ö b e l (25) über die Bedeutung von Dauergewebe für die Bildung von Adventivsprossen äußert: „Besonders lehrreich ist *Cardamine* für die Frage, inwieweit bei der Bildung der Adventivsprosse embryonalgebliebene Zellgruppen oder Dauergewebe, das wieder in den embryonalen Zustand übergeht, in Betracht kommt. . . . Die übrigen Adventivknospen entstehen aus Dauergewebe, das aber eine ganz bestimmte Lage hat: meist an den Gabelungsstellen der Nerven, seltener über einem einfachen Nerv. R i e h m beobachtete aber an einer in einem Gewächshaus kultivierten Pflanze, daß hier auch über den Nervenverzweigungsstellen die Zellgruppen ihren embryonalen Charakter beibehalten hatten, ein Beweis dafür, wie wenig scharf die Abgrenzung von „embryonalem“ und Dauergewebe ist; sie lassen sich wahrscheinlich auch durch die Bedingungen, unter denen die Blätter sich entwickeln, beeinflussen.“

Solche latente, meristematische Eigenschaften von dem äußeren Anscheine nach fertigen Dauergeweben scheinen nun auch in den Blattlausgallen eine große Rolle zu spielen, und namentlich wäre es interessant, zu ermitteln, ob nicht die von mir aufgezeigten Aktivitätszonen solche Eigenschaften in höherem Grade besäßen als das übrige Gewebe.

\* \* \*

Daß es außer den genannten noch weitere Faktoren geben könnte, die unabhängig vom Gallentier auf die Entwicklung der Gallen Einfluß nehmen, zeigt die Beobachtung von L ö w (62) [l. c.], daß *Rhinocola speciosa* auf Pappelblättern in Aragonien Erweiterungen und blasige Auftreibungen der Blattlamina hervorruft, wodurch zwischen den Seitenrippen des Blattes buchtige Ausstülpungen und Höcker entstehen, während in der Umgebung von Wien dieselben Tiere auf derselben Pflanze nur unbedeutende Einrollungen verursachen. Die Vermutung von L ö w, daß hierfür Boden- und klimatische Verhältnisse oder solche, die in der Pflanze liegen, maßgebend sein könnten, ist denkbar, vorläufig aber noch verfrüht, so lange wir den genauen anatomischen Bau nicht wissen und nicht erfahren, ob nicht vielleicht der Zeitpunkt des Auftretens der Parasiten in Aragonien mit einem anderen Entwicklungsstadium der Blätter zusammenfällt als in Wien, so daß die Verschiedenheiten gradueller Natur wären und sich die beiden Gallen zueinander verhielten wie die Frühjahrsgalle der Johannisbeerenblattlaus zu den unbedeutenden Rollungen der Juniinfektion.

In dieselbe Beurteilung dürften ferner zahlreiche, sogenannte „fakultative Gallen“, wie sie K ü s t e r (54) [l. c. p. 252] erwähnt und über die heute zu urteilen zum mindesten verfrüht ist, solange wir noch nicht wissen, in welchem Alter sich die Organe der Wirtspflanze zur Zeit der Infektion befunden haben, fallen. Unter den Aphidengallen gehört hierher die schon einmal erwähnte *Macrosiphon solani*-Infektion auf Kartoffel-

<sup>25)</sup> G o e b e l, K., Einleitung in die experimentelle Morphologie der Pflanzen. Leipzig 1908.

blättern [Grevillius und Nießen (28)], für welche namentlich in der Richtung eine Untersuchung dringend not tut, ob tatsächlich bei starker Invasion auf den Kartoffelblättern Gallen hervorgerufen werden und ob nicht ausschließlich das Alter der betreffenden Blätter in die Wagschale fällt, da wir sehen werden, daß die Art und Methode der Vergallung, mithin die Tatsache der Vergallung überhaupt — nicht zu verwechseln mit Erschöpfung der Organe durch Saftentzug — von der Stärke des parasitären Befalles unbeeinflusst bleibt.

### Die Rolle des Parasiten.

Wie bekannt, sind die Rhynchoten, zu denen die Pflanzenläuse gehören, mit langen Saugborsten ausgerüstet, mit Hilfe deren sie sich an einer oder an mehreren Stellen in das Pflanzengewebe einbohren und in der von mir beschriebenen Weise (112) [l. c.] die zum Aufbau ihres Körpers nötigen Substanzen den Pflanzen entziehen. Die Art und Weise der Nahrungsaufnahme unterscheidet sich von der anderer Parasiten, namentlich der Dipteren-, Hymenopteren- und Coleopterenlarven, wesentlich, indem letztere mit ihren Mundwerkzeugen größere Verwundungen verursachen und große Zellenkomplexe bloßlegen (eine genaue Untersuchung, namentlich über die Rolle etwaiger Sekrete wäre sehr wünschenswert), bei den Aphiden dagegen außerordentlich feine Stichkanäle entstehen, die freilich im Pflanzengewebe selbst reichliche Verzweigungen erfahren und überdies gleichzeitig mit dem Einstiche mit Speichelsekret aufgefüllt werden, dessen komplizierte Rolle bereits erforscht wurde. Da die Pflanzenläuse in keiner anderen Weise mit den Wirtsorganen in innigeren Kontakt treten — die Ablagerung von Honigtau auf der Blattfläche will ich hier außer acht lassen —, ist es naheliegend, daß dann, wenn als Folge der Lausbesiedelung sich Vergallungen zeigen, diese mit den Stichen in ursächlichem Zusammenhang gebracht, als Wirkungen derselben betrachtet werden, ohne daß man freilich imstande wäre, genauere Angaben zu machen, worin diese Wirkungsweise besteht, da es doch auffallen muß, daß manche Läuse keine Gallen erzeugen, andere wiederum außerordentlich mächtige Gewebewucherungen hervorrufen.

Die Blattlausstiche für die Entstehung der Aphidiocecidien verantwortlich zu machen, hat bereits Réaumur (78) versucht; allerdings haben sich seine Erklärungen der Gallbildung nicht halten können, da er den ganzen Vorgang sich ausschließlich mechanisch vorgestellt hatte. Desgleichen führen A. Tullgren (104) [l. c.] für die *Prociphilus bumeliae*- und *xylosteigalle*, M. A. Derbès (11) [l. c.] für die *Pistacia* gallen, Vosseler (105) [l. c.] für *Psylliden* gallen die pathologischen Veränderungen auf den Stich der Parasiten zurück. Für Schildlausgallen auf *Quercus* fand C. Howard (38) [l. c.], daß „certaines cellules aient été désagrégées par les lancettes du coccide tandis que l'autres auraient eu, au contraire, leur vitalité augmentée.“ Gleich hier sieht C. Howard auch an *Pittosporum* die Gallen „sous l'influence de ses suctions répétées et grâce à ses lancettes qui pénètrent profondément“ entstehen.

Küster (54) [l. c. p. 259] glaubt, daß das Saugen der Tiere den Pflanzen nicht nur Wunden beibringt, sondern sie auch beeinflusst, indem es den

<sup>28)</sup> Grevillius, A. Y. u. Nießen, J., Begleitwort zu *Zoocecidia* und *Cecidogoa*. Lief. 5. Kempen 1910. 18.; zitiert nach Küster (Gallen der Pflanzen.)

<sup>78)</sup> Réaumur, *Mémoires pour servir à l'histoire des Insectes*. III. Mém. 9. p. 21 der Amsterdamer Ausgabe (zitiert nach Courchet).

Zellen einen Teil ihres Flüssigkeitsgehaltes abzapft, ihren Turgordruck verändert und Unterschiede im Substanzgehalte benachbarter Zellen und Gewebeteile zustandebringt: „Es darf angenommen werden, daß durch das Saugen und Anzapfen seitens der Tiere abnorme Diffusionsvorgänge in dem infizierten Pflanzenteil hervorgerufen werden können, die für seine weitere Entwicklung schwerlich bedeutungslos sind.“ Zu dieser Tatsache der aktiven Rolle der Blattlausstiche für die Vergallung überhaupt kommt eine weitere, die sozusagen universelle Bedeutung zu haben scheint, die nämlich: daß die Rollgallen durch oberflächlich sitzende Tiere durch Rollung oder Faltung stets so entstehen, „daß die Gallentiere auf die konkave Seite, das heißt ins Innere der Rolle geraten; findet die Infektion oberseits auf dem Blatte statt, so fällt also die Rollung involutiv aus, siedeln sich die Parasiten auf der Unterseite an, so entsteht eine revolute Rollung. K ü s t e r (54) [p. 141]“. Da also die Parasiten stets auf die Innenseite der Blattrolle, in die Höhlung des Blattbeutels zu liegen kommen, muß offenbar die dem Parasiten zugekehrte Seite die schwächer wachsende sein. An anderer Stelle sagt K ü s t e r: „Der Unterschied in der Intensität des Flächenwachstums der Blattoberseite und Blattunterseite fällt in allen Fällen zu Ungunsten der dem Parasiten zugewendeten und seiner Wirkung unmittelbar aufgesetzten Seite des Blattes aus.“

Analoge Beobachtungen liegen vor für *Pemphigus bursarius* von L. C o u r c h e t (10) [l. c.], für *Schizoneura lanuginosa* von M. M o l l i a r d (71) [l. c.], für die *Pemphigus*-Gallen auf *Pistacia* von L. C o u r c h e t (9) [l. c.], für verschiedene Coccidengallen von C. H o u a r d (38) [l. c.], L. G e i s e n h e y n e r (24) [l. c.] — auf *Hieracium praecox* an Stengeln, die sich infolge dessen, weil die stärkere Krümmung auf der dem Tiere abgekehrten Seite liegt, während die Stellen, wo die Tiere sitzen, eingeknickt erscheinen, die Tiere aber bald da und bald dort sitzen, unregelmäßig hin und her krümmen — und F. L ö w (60) [l. c.] für Schildlaus befallene Mistelblätter. Auch die Reblausnodositäten fügen sich dieser allgemeinen Regel, was schon C o r n u (8) erkannt hatte.

H. F. K e s s l e r (45) [l. c.], der ebenfalls Saugen und Stich der Tiere für die Entstehung der Gallen verantwortlich macht, kommt auf die verschiedene Gestalt der Ulmengallen zu sprechen, und sieht für die längliche Gestalt der *Pemphigus ovato-oblongus*-Galle die Ursache darin, daß die Urheber derselben in der Anfangszeit das sich neu bildende Gewebe nicht in einem Punkte affizieren, sondern in mehreren, welche in einer geraden Linie längs der Hauptrippe des jungen Blattes liegen, und erst später in der Mitte dieser Linie ihre Tätigkeit an einer und derselben Stelle fortsetzen, wodurch sie dann die allmähliche Erhebung dieser Stelle mit ihrer nächsten Umgebung so lange unterhalten, bis die Gallen ihre charakteristische Form erlangt haben. Da denselben Gedanken auch T h o m a s (97) [l. c.] ausspricht und es für die Entwicklung der Milben- und Aphidenzellen für bedeutungsvoll hält, ob der Parasit bei seinem Angriff auf das Blatt auf einem Punkte verharrt oder nicht — im ersteren Falle entstehen, sowie auf der Ulme die *Tetraneura ulmi*-Galle, Gallen von kugelig oder hornförmiger Gestalt, oder eine kurze Umschlagung des Blattrandes, im anderen Falle wird eine Blattfaltung oder Blattrollung gebildet, wenn das Tier bei Veränderung seines Angriffspunktes eine bestimmte Richtung einhält — sei

<sup>a)</sup> C o r n u, M., Altération des racines de la vigne sous l'influence du *Phylloxera vastatrix* Planchon. (Bull. soc. botan. de France. T. 12. 1875. p. 290.)

eine kurze Erörterung eingeschaltet: Ob wir späterhin gezwungen sein werden auf solche Erklärungen zurückzukommen oder nicht, jedenfalls sind diese Ansichten vorderhand unbegründete Hypothesen, denn Untersuchungen liegen nicht vor. Kessler hat keine anatomischen Untersuchungen angestellt, namentlich nicht in der Richtung, durch die Feststellung älterer Stichkanäle die ehemalige Lage des Parasiten zu eruieren, und für die *Pemphigus ovatooblongus* galle hat der Erklärungsversuch keine Berechtigung, da wir die Notwendigkeit kontinuierlicher Reizwirkung für die Gallbildung kennen und ein vorübergehendes Wandern des Tieres in der Anfangszeit nicht jenen späterhin entfernten Geweben einen dauernden Impuls zu eben dieser Gallbildung geben kann. Was speziell die Galle der *Tetraneura ulmi* betrifft, so sitzt zwar das Tier in der ersten Zeit der Infektion an einem Punkte. Späterhin aber verändert es, wie ich aus manchen Beobachtungen folgern muß, zweifellos seine Lage. Genaue anatomische Untersuchungen, in Verbindung mit der gründlichen Revision der Entwicklungsgeschichte, liegen in meinem Plane. Ich habe unter den Gallen eine gefunden, die zwei Beutel darstellte, so zwar, daß sich beide in der Mitte berührten und dort ineinander übergingen. Die erste Vermutung, es wären zwei Muttertiere darin gesessen, erwies sich als unrichtig, und so bleibt zur Erklärung der Eigentümlichkeit nur die Annahme übrig, daß das Tier in der Galle stets Wanderungen vornimmt und bald da und bald dort saugt, ohne eine bestimmte Norm dabei einzuhalten. Zur Zeit der Untersuchung hatten sich außer dem Muttertier keine Jungen in der Galle befunden. Wie sich die *Pemphigus ovatooblongus* galle wird erklären lassen, werden spätere Untersuchungen zeigen, haltlose Hypothesen sind wertlos. Auch die Ansichten von Thomas scheinen mir nicht stichhaltig, namentlich glaube ich nicht, daß das saugende Tier beim Wandern eine bestimmte Richtung beibehält, als Folge wovon Blattrollungen bestimmter Gestalt entstehen sollen. Alle diese Vorstellungen überschätzen unzweifelhaft die Rolle des Tieres bei gleichzeitiger Unterschätzung der Aktivität der Pflanzenzellen; unser Einblick in die Entwicklungsmechanik der Blattrollen hatte indessen gezeigt, daß solche Gesetzmäßigkeiten auf das Konto der Pflanze selbst zu setzen sind, weshalb es verfehlt ist, wie Thomas es tut, für bestimmte Formänderungen immer bestimmte Einflüsse seitens des Parasiten verantwortlich machen zu wollen.

Wenden wir uns nun aber der Frage der Aetiologie näher zu, so müssen wir vorerst Umschau halten, ob tatsächlich immer die dem Tiere abgekehrte Seite die stärker wachsende ist, die Tiere sonach immer in den Hohlraum kommen? Und da bildet nun die Aphidengalle auf *Lonicera* eine merkwürdige Ausnahme, die nicht ohne weiteres verständlich ist. Wieso kommt es aber, daß die Tiere fast stets an der schwächer wachsenden Seite sitzen? Ist es die Lage der Tiere an und für sich oder sind andere Momente maßgebend? Spielt die Zahl der Verteilung der Tiere für die Art und den Grad der Vergallung eine durchgreifende Rolle? Können wir aus der Verteilung der Parasiten die Gesetzmäßigkeiten der Vergallung speziell in der Aktivierung bestimmte Bewegungsgewebe erklären? Diese Fragen zu beantworten, müssen wir im Folgenden zunächst die Verteilung der Stiche an den Blättern im allgemeinen, besonders zur Lage der Gefäßbündel, weiter in Beziehung zur Gallrollung und schließlich die Abhängigkeit des Grades der Vergallung von der Zahl der Infektionszentren zu ermitteln suchen.

Zur Diskussion steht jedoch noch die Frage, ob es im allgemeinen gleich-

gültig ist, die Verteilung der Tiere, die Zahl der Tiere oder vielmehr die der Stiche zu vergleichen. Wenn die Tiere aktiv auftreten, was sollen wir als Reizzentren betrachten? Sowohl vom Standpunkte anzunehmender Wundreize als von dem irgendwelcher chemischer Reize, die von den Stichkanälen ausgehen, können ausschließlich die Stiche selbst, nach Zahl Lage und Verteilung in Betracht, kommen, und wäre — was mir allerdings undurchführbar scheint — auch zu prüfen, wie lange eine Blattlaus ein bestimmtes Stichsystem in Anspruch genommen hat. Da nun aber die Tiere wiederholt einstechen, können ihrer wenige dasselbe Bild hervorrufen wie zahlreiche, deren jedes nur einen einzigen Stich, mithin eine einzige Saugstelle schafft. Obgleich das nun vom Standpunkte der Energiequantitäten nicht belanglos ist, wäre es andererseits für das Studium der Stichverteilung nicht genau und unzulässig, bloß die Tiere zu zählen, schon auch deshalb nicht, weil die Festhaltung sämtlicher Tiere beim Konservieren, die trotz aller Vorsicht zum Teile abfallen, nicht möglich ist, und, wo infolge völliger Geschlossenheit der Rolle ein gänzliches Fortfallen der Tiere nicht zu befürchten ist, doch sinnstörende Lageveränderungen nicht vermieden werden können. Es bleibt demnach kein anderer Ausweg, als die Stiche zu zählen und zu vergleichen. Ist nun aber bald ein kurzer, bald ein langer Stich, bald ein ganzes Stichsystem als Reizzentrum aufzufassen, so ist bei der Untersuchung, wie oft ein bestimmtes Gewebestück angestochen worden war, die Ungenauigkeit unmittelbar einleuchtend, weil ein reichverzweigtes Stichsystem als Reizquelle quantitativ sicherlich vielleicht zehn kurze zu ersetzen vermag. Je größer nun aber die Zahl der beobachteten und registrierten Stiche ist, um so mehr gleichen sich die Fehler auf eine mittlere Stichgröße zu aus, und wir werden nach dem Gesetze der großen Zahlen trotzdem, trotz eines solchen Fehlers, eine annähernd richtige Einschätzung der Energiezentren und Reizquantitäten gewinnen. Die Tiere, die von einer bestimmten Blattseite einstechen, dringen nun beim Stechen, je nach dem Verhältnis zwischen Tiergröße und Blattdicke, verschieden tief in das Blattgewebe vor, und es werden sich demnach Verschiedenheiten ergeben, je nachdem sie dieses oder jenes Gewebe hauptsächlich als Nahrungsquelle benützen, obgleich diese Differenzen nicht sehr groß sein werden, weil wir vom „Saugphänomen“ her wissen, daß so ziemlich alle vom durchstechenden Bündel und abgesonderten Speichelsekret berührten Zellenzonen von der Aussaugung und zugleich von gewissen damit verbundenen chemischen und Wundreizen betroffen werden. Wenn es nun richtig ist, daß die dem Saugzentrum und mithin Energiezentrum am nächsten liegenden Gewebepartie am meisten von einer Wachstumshemmung betroffen ist, so kommt es wohl im wesentlichen darauf an, wo die stärksten Stichverteilungen, — -verzweigungen und Speichelabsonderungen stattfinden, also wo am lebhaftesten gesaugt wird, und nicht darauf, wo die Tiere sitzen, da außer einem gewissen Druck vielleicht, den die Tiere durch ihre Lage ausüben, und den mikroskopisch kleinen Einstichstellen, die von den Tieren besiedelten Blattseiten an und für sich nicht stärker in Mitleidenschaft gezogen werden als die anderen Seiten, sondern lediglich diejenigen Gewebe am meisten in Mitleidenschaft gezogen werden, in denen sich das Blattlaushyphensystem, also Saug- und Giftwirkungen, am stärksten entwickeln und verbreiten. Auf diese wichtige Tatsache weise ich hier hin, weil wir darin vielleicht die Lösung des Rätsels zu suchen haben werden, das uns die Aphidengalle auf *Lonicera* bietet, welche die bedeutend stärker besiedelte Seite zur konvexen werden

läßt, und deren Erreger in einem gewissen Unterschiede zu den anderen von mir untersuchten Blattläusen zufolge der Borstenlänge die entgegengesetzte Blattseite stärker in Anspruch nimmt, als diejenige, an der er sitzt.

Da am Tage der Konservierung noch zahlreiche Läuse auf den Objekten sitzen und saugen, zu einer Zeit, wo das Gewebe, das wir dann bei der Untersuchung vorfinden, schon fertig vorliegt, also Stiche in bis zu diesem Termin soweit entwickeltes Gewebe stets von neuem gesendet werden, entsteht die Frage, ob wir ein Recht haben, alle die zahlreichen Stiche, die uns bei der Untersuchung begegnen, in ursächlichen Zusammenhang mit diesem Gallengewebe zu bringen. Erschwerend für die Beurteilung werden diese Verhältnisse dort sein, wo sich das Alter der Stiche — denn es leuchtet ein, daß für dieses Gewebe die jüngsten Stiche, die in schon typische Gallenzellen geführt worden waren, ätiologisch nicht mehr in Betracht kommen können — wegen der geringeren anatomischen Veränderungen schwerer feststellen läßt, wie z. B. bei den einfachsten Gallen des Primärstadiums; in den anderen Fällen aber, wie bei der *Prunus*-, *Fraxinus*- und *Aphis oxycantha*-galle, ist eine außerordentlich weitgehende Gewebeumlagerung vor sich gegangen, so daß die Zellenstruktur von damals, als die ersten die Galle verursachenden Läuse zu saugen begonnen hatten, gegenwärtig nicht mehr zu Recht besteht. Nachdem nun die betreffenden Zellen in lebhaftes Wachstum geraten, von dem auch die den Stichen zunächst liegenden Zellen nicht verschont bleiben — ja wir müssen sogar annehmen, daß die von den Stichen direkt getroffenen Zellen später an der pathologischen Veränderung teilnehmen, — erleiden in solchen Zellen diese Erstlingsstiche bedeutende Veränderungen; sie werden, da sie der Entwicklung der Gewebe entgegenstehen, andererseits aber doch zu wenig Widerstand zu leisten vermögen, von den wachsenden Zellen verschoben bis zerrissen, so daß solche Stiche, wie sich vereinzelt beobachten läßt, ähnlich den Verwerfungen geologischer Schichten, irgendwo plötzlich abbrechen und in einiger Entfernung davon die Fortsetzung erfahren. Die hohe Aktivität und Energie der jungen Zellen räumt aber mit diesen Speichelsekretlinien auch in chemischer Hinsicht auf, verändert sie, wie das allmähliche Schwinden der Färbbarkeit mit Safranin zeigt, so daß solche alte Stiche oft nur noch schwer aufzufinden und nicht immer mit Sicherheit nachzuweisen sind. Solche Stiche finden sich, wie gesagt, selten, so daß wir darin eine wertvolle Handhabe für die Beurteilung der Abhängigkeit der Gallenbildung von der Zahl der Stiche und saugenden Tiere gewinnen werden.

Wenn ich nun trotzdem sämtliche Stiche, die sich finden ließen, in Betracht gezogen habe, so geschah das deshalb, weil die Tiere einmal ihre Lage an den Objekten im wesentlichen beibehalten, und es nicht im Plane solcher Untersuchungen liegen kann, bestimmte Stiche zu bestimmten Geweben und Zellen in Beziehung zu bringen, sondern vielmehr die Gesamtheit der Stiche als Reizsumme für die Aktivierung der Bewegungsgewebe einerseits, die Grade der Vergallung andererseits zu verwerten sein wird, und die Fehler einer zu großen Zahl betrachteter Stiche bei allen Gallen in gleichem Maße sich finden werden, mithin beim Vergleiche dieser Gallen untereinander zum größten Teile sich aufheben müssen. Haben wir etwa für zwei Gallen die Zahlen 100 und 50 gefunden, wären aber tatsächlich etwa nur ein Viertel aller Stiche ätiologisch verwertbar gewesen, so erhalten wir die Zahlen 25 und 12½; das Verhältnis 2:1 bleibt aber trotzdem konstant. Jeder andere

Weg der Untersuchungsmethode scheint mir derzeit aussichtslos, zu leitenden Gesichtspunkten zu gelangen; ich will mich auch keineswegs verleiten lassen, bestimmte Unregelmäßigkeiten, die sich an der einen oder andern Galle finden, aus der Lage und Verteilung bestimmter Stiche erklären zu wollen.

In diesem Sinne werden wir auch für die Aphidengalle auf *Lonicera* die Mehrzahl der Stiche als jüngeren Datums bezeichnen müssen; allerdings erschwert der nicht sehr hohe Grad pathologischer Veränderungen diese Beurteilung. Gleichwohl haben sich hier andere interessante Veränderungen beobachten lassen, die einigermaßen zu Hilfe kommen und lebhaft an das erinnern, was ich (112) [p. 328 und 329] für die *Artemisia* und *Evonymus* stengel gesehen habe und in anderer Form ebenfalls auf das höhere Alter solcher Stiche zu schließen gestattet. In Fig. 27 ist ein solcher Stich festgehalten. Das Sekret ist punktiert, während die Celluloseverdickungen, die die umliegenden Zellen um den Stichkanal gebildet hatten, schwarz gehalten sind. Man sieht nun sehr deutlich, daß der Einstich zu einer Zeit erfolgt sein mußte, da die Entwicklung dieser Zellen noch nicht abgeschlossen war. Das Gewebe ist durch diesen Stichkanal irritiert, namentlich sind die drei rechtsfolgenden Zellen, die nicht in die Höhe wachsen konnten, da sie am Stichkanal gewissermaßen festgehalten waren, stark in die Breite gezogen; auch links sind die Teilungen sehr unregelmäßig. In vielen Fällen sind die Einstichstellen zugleich Vertiefungen der Außenfläche. Waren also in anderen Fällen die ältesten Stiche einfach zerrissen worden, so hat sich die Pflanze in ihnen hier selbst ein Hindernis geschaffen, indem sie die anliegenden Zellwände stark verdickte und so einen sekreterfüllten Cellulosekanal schuf, der den weiteren Wachstumserscheinungen in seiner unmittelbaren Umgebung abträglich war. Solche Stiche interessieren uns weniger vom Standpunkte der anatomischen Veränderungen an den Berührungszonen, sondern vielmehr deshalb, weil sie auf eine verhältnismäßig frühe Entstehung schließen lassen, was gerade bei der Aphidengalle auf *Lonicera*, die trotzdem involutiv ist, von größter Wichtigkeit ist, weil sie zeigen — die Figur bezieht sich auf das ventrale Nervenparenchym — daß keineswegs die Tiere in der Gallenhöhle früher gestochen haben, als die zahlreicheren, die wir an der Außenseite dieser Galle vorfinden.

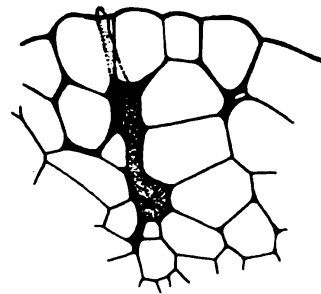


Fig. 27.

#### Zahl und Verteilung der Stiche im allgemeinen.

Die folgenden schematischen Skizzen sind kombinierte Querschnittsbilder von durchschnittlich hundert Schnitten von je 10  $\mu$  Dicke, so daß die Stiche einer Galle etwa im Längsverlaufe von 1 mm registriert erscheinen. Die einzelnen Stiche sind mit Ziffern versehen und in ihrer Reihenfolge von links nach rechts zu zählen. Wo die Stiche sehr zahlreich waren, erhielten alle, die auf einem Schnitte, also in derselben Höhe auftraten (z. B. Fig. 28), dieselbe Ziffer. Die Verteilung der Stiche war für die einzelnen Gallen in deren ganzem Verlaufe konstant, so daß die Verhältniszahlen, die den einzelnen Skizzen zu entnehmen sind, für jede ganze Galle zugleich gelten. Warum die Registrierung der Stiche nicht über den Betrag von 1 mm Länge hinausgeführt wurde, begründet sich in der physischen Unmöglichkeit, noch mehr,



als z. B. in Fig. 28, Stiche einzuzeichnen; des leichteren Vergleiches halber wurde dann auch bei den anderen Gallen dieses Längenmaß beibehalten.

An der *Prunus* galle des ersten Typus lassen sich Stiche nur sehr spärlich nachweisen. Etliche Stiche trafen den Mittelnerv von der Außenseite, sehr wenige sind an der Oberseite zu erkennen von zwischen den beiden Spreitenhälften sitzenden Tieren. Die Galle des II. Typus ist (Fig. 30) ebenfalls sehr arm an Stichen, starke Vergallung ist mit Armut an Stichen verknüpft. Auf einer Länge von 780  $\mu$  enthielt die Rolle nur 13 Stiche.

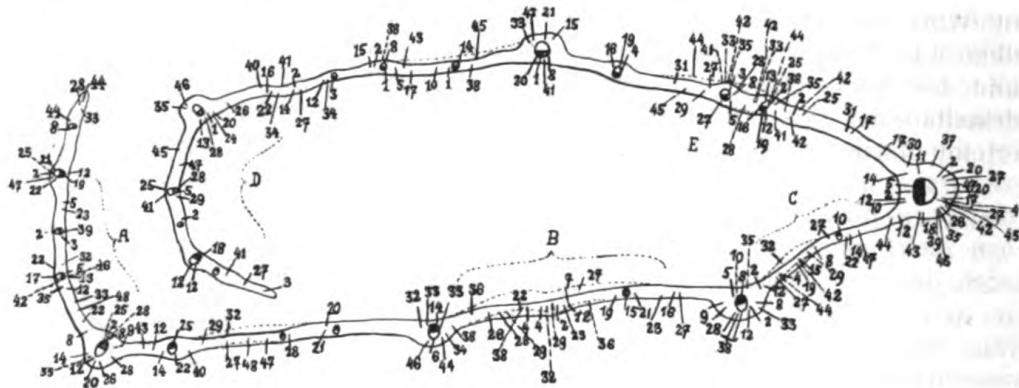


Fig. 28.

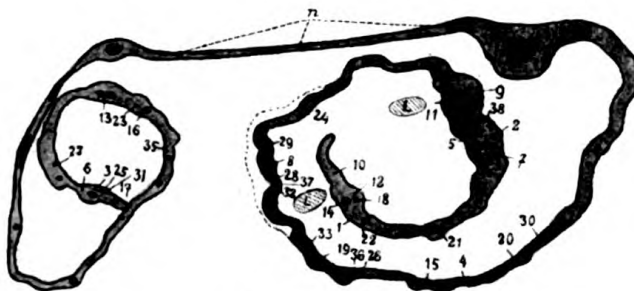


Fig. 29.

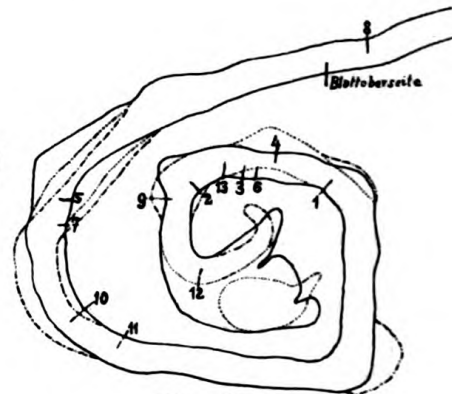


Fig. 30.

An der *Aphidengalle* auf *Lonicera* ist die Zahl der Stiche an der ganzen Blattfläche enorm groß. Die Zählung erstreckte sich nur auf 510  $\mu$  Länge, und doch fanden sich nicht weniger als 233 Stiche, von denen 143 die Unterseite, 90 die Oberseite betrafen. (Fig. 28). Die Verteilung der Stiche über die Blattfläche ist eine ziemlich regelmäßige. Die Beschaffenheit der Stiche ist, wie schon angedeutet, infolge des Mißverhältnisses zwischen Tiergröße und Blattdicke, eine sehr auffallende. Von den zahlreichen Stichen, die den Mittelnerv trafen, sind besonders die ventralen mächtig: dicke, lange Sekretlinien streben von allen Seiten dem Leptom zu, erfahren dort reiche Verzweigungen und laufen sogar über dasselbe hinaus ins Hadrom, ja bis in das dorsale Nervenparenchym. Im allgemeinen sind die dorsalen Einstiche an den größeren Nerven bescheidener; die Stiche durchsetzen zwar ebenfalls das Hadrom, enden aber zumeist im Leptom. Die Stiche verlaufen so dicht, daß an etwas dickeren Querschnitten das Blattlaushyphensystem sozusagen das ganze Bild beherrscht. Stichkanäle verschiedener Tiere (mehrere Tiere anzunehmen, sind wir berechtigt, weil wir aus der Dicke der Kanäle auf die



Größe des Borstenbündels und mithin auf das Alter der Tiere schließen können) laufen unmittelbar nebeneinander, oft nur durch eine Zellage getrennt, und ich halte es für wahrscheinlich, daß die Tiere gelegentlich vorhandene Stiche durchbohren. Noch krasser wird das Mißverhältnis zwischen Zartheit der Blätter und Länge der Borstenbündel in der nervenlosen Blattspreite. Häufig stechen die Tiere auf eine Blattseite ein und saugen die entgegengesetzte Epidermis aus, ja, in einem Falle sah ich, daß das Tier, offenbar im Übereifer seiner Arbeit, über das Ziel hinausgeschossen und zur anderen Seite herausgefahren war. Daß das Tier zweimal herausgestochen hatte, möchte ich keineswegs in Widerspruch mit dem feinen Empfinden des Borstenbündels finden, denn das Tier konnte sehr wohl einen großen Interzellularraum vermutet und den Versuch gemacht haben, durch Absonderung von Speichel jenseits desselben gelegene Zellen tributpflichtig zu machen, bis es schließlich, weil erfolglos, von seinem Beginnen abließ.

Die *Fraxinusgalle* (Fig. 29) zeigt nur in den Laminarpartien Stiche, während der Mittelnerv und links davon eine mit „n“ bezeichnete Zone davon verschont geblieben waren. Die Zahl der Stiche ist verhältnismäßig gering. Auf einer Länge von 800  $\mu$  konnte ich nur 38 Stiche feststellen, von denen die Mehrzahl die Blattunterseite, nur 8 die Oberseite betrafen. Die Stiche sind durchwegs viel zarter als bei der *Aphidengalle* auf *Lonicera*, etliche waren in ihrem Verlaufe zerrissen, sind mithin ätiologisch von besonderem Interesse.

Die *Aphis oxyacanthae*-Galle zeigte, gleich der früheren, ebenfalls nur an der Blattspreite Stiche, der Mittelnerv blieb verschont. Sämtliche Stiche beschränkten sich auf die Blattunterseite. Die Zahl ist ebenfalls spärlich zu nennen; auf einer Länge von 750  $\mu$  fanden sich, auf das ganze zu beiden Seiten eingerollte Blatt, mithin auf zwei Rollgallen verteilt, nur 46 Stiche, für die das für die *Fraxinusgalle* Gesagte gilt. Soweit sich die Bilder verfolgen ließen, war außer dem Mittelnerv auch der eine große Seitennerv frei von Stichen. Im übrigen war die Stichverteilung ziemlich regelmäßig.

An der *Aphis-pomigalle* umfaßte das halbe Blatt der einen, von mir untersuchten Galle (Fig. 1) mehr Stiche, als die Doppelgalle der *Aphis oxyacanthae* von annähernd gleicher Länge. Die Stiche sind sehr zahlreich und liegen dicht nebeneinander; 55 Stiche drängen sich auf diesen kleinen Raum zusammen, die, mit Ausnahme von dreien, sämtlich die Blattunterseite treffen. Daß in solchen Fällen eine ziemliche Beschränkung der Stiche auf eine Blattseite möglich war, hat seinen Grund in erster Linie darin, daß keine wiederholte Rollung stattfand, wie etwa bei *Prunus* und *Fraxinus*, und die in der Gallenhöhle sitzenden Tiere, wohin sie auch stechen mochten, doch immer nur die Unterseite treffen konnten. Ein Übergreifen auf die Oberseite ist nur am Blattrande möglich, indem die Tiere aus dem Innern an die Außenseite der Galle wandern, wie die Stiche 2, 10 und 4 beweisen.

Die Zahl der Stiche an der *Prociphilus-xylostei*-Galle ist etwas spärlicher, als an der vorigen, obwohl auf 960  $\mu$  Länge 62 Stiche entfielen, da das Blatt überhaupt viel größer ist und die halbe Spreite hier der ganzen dort entsprechen würde. Von diesen 62 Stichen treffen 18 die Blattoberseite, der Rest die Unterseite. Die Verteilung ist eine ziemlich unregelmäßige, als große Blattstrecken ohne Striche sind. Beide *Lonicera*-Gallen aber stimmen darin überein, daß die Mehrzahl, etwa  $\frac{2}{3}$  aller

Stiche, auf die Unterseite entfallen. Im übrigen sind die Stiche der *Prociphilus*-Galle viel kleiner und zarter, als an der Aphidengalle und entfallen sich hauptsächlich an der Seite, von der aus sie erfolgen.

#### Verteilung der Stiche in Beziehung zu den Blatt- nerven.

An der *Prunusgalle* habe ich keine Beschränkung der Stiche auf die Nerven gefunden. Die *Aphidengalle* auf *Lonicera* zeigte die meisten Stiche unstreitig an den Blattnerven.  $\frac{3}{5}$  aller trafen größere Nerven, bald von oben, bald von unten. Der Rest trifft kleinere Bündel oder schließlich bündelfreies Mesophyll. Eine scharfe Sonderung in dem Sinne, ob die Ober- oder Unterseite mehr Mesophyllstiche hat, läßt sich hier schwer durchführen. Daß die Gefäßbündel und größeren Nerven hauptsächlich von der Blattunterseite getroffen werden, hat seinen Grund darin, daß die ventral vorspringenden Nerven den Tieren viel günstigere Angriffs- und Stützpunkte bieten, als die schmalen, dorsalen Rinnen. So trug der Mittelnerv an der von mir registrierten Zone viermal soviel ventrale als dorsale Stiche.

Eine irgendwie wahrnehmbare Bevorzugung oder Beschränkung auf die Nerven habe ich an der *Fraxinusgalle* nicht gefunden. Die wenigen Stiche treffen wahllos vergalltes Gewebe; die im Bereiche der Parasiten gelegenen, in der Entwicklung, wie wir wissen, gehemmten Gefäßbündel scheinen auf die Tiere keine besondere Attraktion ausgeübt zu haben. Eine ebenso untergeordnete Rolle spielen die Nerven bei der *Aphis oxyacanthae*-Galle.

Auffallend ist dagegen die Beschränkung der Stiche auf die kleineren und größeren Nerven bei der *Aphis pomigalle*. Je größer die Nerven, um so mehr Stiche ziehen sie an, und auch an der Oberseite treffen die drei Stiche Nerven, obwohl diese geringe Beobachtungsmöglichkeit kein Urteil zulassen kann. Die nervenfreie Unterseite zeigt außerordentlich wenige Stiche. Auch die *Prociphilus xylostei*-Galle läßt ein deutliches Prävaliren der Nervenstiche erkennen; die ventralen Stiche beziehen sich fast immer auf Nerven, die dorsalen dagegen — und das ist sehr beachtenswert — viel weniger, außerordentlich häufig laufen Stiche ins Palisadengewebe.

Vergleichen wir nun die sechs Gallen in dieser Hinsicht und mit Bezug auf den Grad der Vergallung noch einmal. Sitzen die Tiere an der *Blattoberseite*, so findet zwar eine Bevorzugung der Blattnerven gegenüber dem Palisadengewebe statt, keineswegs aber so weitgehend, als an der Blattunterseite, deren Stiche größtenteils auf die Nerven beschränkt sind, solange die Vergallung keinen sehr hohen Grad erreicht hat und die normale physiologische Differenzierung der Blattgewebe noch einigermaßen zu Recht besteht, wie das für die *Prociphilus xylostei*-, *Aphis pomi*- und eventuell noch für die *Aphidengalle* auf *Lonicera* gilt. Außerordentlich auffallend ist aber der Unterschied, den in dieser Hinsicht die abgeleiteten Gallen dokumentieren: Eine Beschränkung, ja nicht einmal eine Bevorzugung, der Blattnerven läßt sich bei der *Prunus*-, *Fraxinus*- und *Aphis oxyacanthae*-galle konstatieren, auch die ventralen Stiche — und bei den letzten beiden Fällen spielen sie die Hauptrolle, — kümmern sich nicht mehr um die Lage der Blattnerven, die Tiere stechen, fast möchte man sagen, wahllos. Es ist nun nicht uninteressant, daß diese

Zurücksetzung der Gefäßbündel einmal mit deren geringerer Entwicklung und dann mit der Zunahme der allgemeinen Vergallung, mithin mit der gleichzeitigen Vernichtung der ventralen, großen Interzellularräume des Schwammparenchyms, Hand in Hand geht. Mögen erstere einen geringeren Attraktionsreiz ausüben, so bedeutet das Fehlen größerer Interzellularräume des Schwammparenchyms für die Blattläuse, die nun hier so wie im Dorsalgewebe einstechen können, einen unleugbaren Vorteil und deutet die Haltung der Blattläuse auf einen außerordentlich ökonomischen Speicherverbrauch hin. Wir wissen vom „Saugphänomen“ her, daß die Blattläuse hauptsächlich interzellular saugen, und dabei bestrebt sind, größere Lufträume mit einer großen Speichermenge teilweise aufzufüllen, um so den Kontakt mit den Nahrung liefernden Zellen zu gewinnen. Nun würde eine solche Aktion bei der mächtigen Entwicklung der Lufträume des normalen Schwammparenchyms einen unverhältnismäßig großen Mehrverbrauch des Speichels bedeuten, ohne daß die Tiere deshalb rascher und sicherer ans Ziel kämen. Ich glaube daher, daß die Blattläuse — von der Anziehungskraft, die die Gefäßbündel als günstige Nahrungsquelle ausüben, abgesehen — hauptsächlich deshalb gerade an der Ventralseite die Einstiche zum größten Teile auf die Nerven beschränken. Die Richtigkeit dieser Auffassung dokumentiert neben der Tatsache, daß die Aphiden, sobald durch die Vergallung dieser Nachteil behoben ist, ohne Rücksicht auf die Nerven, wahllos stechen, vor allem das Verhalten an der Oberseite, für welche ich an der *Prociphilus xylostei*-galle konstatieren konnte, daß von 16 Stichen 9 Stiche das Mesophyll getroffen hatten, die Tiere mithin nicht die geringste Bevorzugung der Blattnerven zeigen, wenn ihnen anderes interzellularenarmes Blattgewebe zur Verfügung steht. Wir müssen demnach nachträglich den Blattläusen die Fähigkeit zusprechen, mit Hilfe ihrer Sinnesorgane, hauptsächlich wohl an der Borstenscheide, hypodermale, größere Lufträume wahrzunehmen.

Und wenn die Aphidengalle diese Differenzierung nicht mehr so deutlich zeigt und auch an der Ventralseite nicht selten Mesophyllstiche beobachtet werden können, so hängt das einmal damit zusammen, daß der Vergallungsprozeß diese Galle bereits vom 1. zum 2. Stadium geführt hatte und die Interzellularräume schon viel spärlicher als im normalen Gewebe sind, und dann sind die Borstenbündel, im Vergleiche zum Zellgewebe und Interzellularensystem, von bedeutender Größe, was den Tieren denselben Vorteil verschafft, wie kleineren Tieren die Verminderung der Lufträume. [Wir haben übrigens bei anderer Gelegenheit (112) [l. c.] ebenfalls Beispiele für ein solches rücksichtsloses Tieferstechen seitens großer Tiere kennen gelernt]. Der Nachteil des *Prociphilus xylostei* gegenüber der Aphide auf derselben Pflanze war mithin ein zweifacher: einmal bedeutendere Entwicklung der Lufträume und dann bedeutendere Kleinheit der Saugapparate, mithin relativ größerer Speichelaufwand.

Ganz zweifellos kommt für das Verhalten der Aphiden auch ein chemisches Moment dazu; wir dürfen wohl annehmen, daß die Inhalte der Mesophyllzellen und der Bündel, wie Molliard ganz allgemein festgelegt hatte, vom normalen Bau differieren und daß Hand in Hand mit der morphologischen Einförmigkeit der Zellen auch eine chemische gegeben wäre, so daß die Tiere, wohin immer sie auch stechen mögen, annähernd gleichwertige Zellen treffen. In diesem Sinne würden die Kataplasmen der Blatt-

rollgallen zu dem homogenen Gallgewebe hinüberleiten, das z. B. die Blutläuse auf den bekannten Krebswunden erzeugen. Ob die Gefäßbündel mit ihrer Minderentwicklung sich auch als Nahrungsquelle zu ungunsten der Blattläuse ändern, wäre zu untersuchen. Das feine Unterscheidungsvermögen der Blattläuse könnte späterhin geradezu geeignet sein, sie zu verwenden, um Unterschiede im chemischen Verhalten von Zellen und Geweben bestimmter Art festzulegen, wo mikrochemische Methoden versagen.

#### Lage der Stiche zur Blattkrümmung.

**Prunusgalle:** Schon einleitend war erwähnt worden, daß der Mittelnerve der Aphidengalle auf *Lonicera* ventrale Stiche zeigt, obwohl sie involutiv ist. Ganz analog sind jene ventralen Stiche, die den Mittelnerve der *Prunusgalle* treffen und, die trotz ihrer geringen Zahl, ätiologisch nicht bedeutungslos sein konnten, weil wir aus ihrem färberischen Verhalten und der Schwierigkeit, solche Stiche auf eine größere Strecke zu verfolgen, auf ihr Alter schließen müssen. Waren diese Stiche in ihrer Gesamtheit in ihrer Beziehung zur Blattkrümmung völlig unklar, so kommt die Bedeutung der dorsalen viel lebhafter zum Ausdruck. In Fig. 11. sind statt der Stiche aus verschiedenen Höhen einer und derselben Galle die dort sitzenden Tiere mit Ziffern eingetragen, und es zeigt sich, daß stets die Einrollung dort eintritt, wo die Tiere sitzen und saugen, und daß an der Blattlamina vorübergehend auch revolute Rollung eintritt, wenn etliche Tiere sich an der Ventral- und damit zugleich Außenseite der Galle befinden (d, 7, 8). Die Galle des zweiten Typus hat die überwiegende Mehrheit aller Stiche ebenfalls an der Blattoberseite, nur einige wenige ventral, an der Außenseite der Rolle. Es darf aber keineswegs verkannt werden, daß die unregelmäßige Verteilung, namentlich aber der völlige Mangel an Stichen rechts in dem Bilde die Erklärung erschwert und daß namentlich die Entstehung der Blattzahngalle, die ich anhangsweise noch besprechen werde, durch die Lage und Nähe bestimmter Stiche kaum irgendwie verständlich gemacht werden kann. Dazu kommt, daß überdies der größte Teil der hier eingezeichneten Stiche, weil in bereits entwickeltes, typisches Gallengewebe geführt, für die Entstehung eben dieses Gewebes nicht mehr in Betracht kommen kann, ohne damit natürlich ihre Bedeutung für weitere Entwicklungen unterschätzen zu wollen, die, wenn wir die Galle ungestört sich weiterhin selbst überlassen hatten, noch eingetreten wären.

**Aphidengalle auf *Lonicera*:** Den bereits gegebenen Ausführungen über das interessante Verhalten und das Überwiegen der Stiche an der einen (Außen-) Seite der Galle, trotz ihrer involutiven Rollungsrichtung, seien noch einige Details nachgetragen. An einigen Punkten im Verlaufe der Galle macht es allerdings den Eindruck, als ob das Überwiegen bestimmter Stichlagen die Konvexität der betreffenden Blattzone nach der entgegengesetzten Seite zur Folge gehabt hätte. Bei A und bei D (Fig. 28) ist eine leichte Involution bemerkbar, bei B und C eine leichte Revolution; und tatsächlich sind bei A und D im Innern, also an der Oberseite des Blattes, die Stiche zahlreicher, als außen, an der Blattunterseite; bei B und C liegt die Sache umgekehrt. Die schwache, scheinbare Gesetzmäßigkeit wird aber illusorisch, wenn wir die anderen Blattzonen betrachten, und namentlich, wenn wir die Nerven, längs deren die Einfaltung erfolgt war, näher vergleichen. Ich erinnere nochmals an den früher gegebenen Erklärungsversuch, nicht die Lage der Einstiche, sondern die Orte der stärksten Entwicklung

der Stichkanäle als hauptsächlichste Hemmungsherde zu betrachten, eine Auffassung, die indessen, angesichts der Unregelmäßigkeiten in der Stichverteilung speziell an den Nerven, auf bedenkliche Schwierigkeiten stößt. Die punktierten Linien im Bilde beziehen sich auf kleine Veränderungen im Querschnittsbild, ihnen entsprechen punktierte Stiche. Eine nicht uninteressante Parallele scheinen mir gewisse Psyllodengallen zu sein, welche F. Thomas (98) [l. c.] beschreibt: Zuweilen fand er Blattausstülpungen an *Aegopodium* von entgegengesetzter Richtung, so daß sie unterseits erhaben waren; trotzdem stand das Ei auch dann auf der Blattunterseite; sehr richtig betont er, daß ein Vergleich mit den umgekehrten Milbengallen nicht statthaft ist, da bei ihnen der Angriff des Cecidozoons von derselben Seite geschieht wie bei den normalen Cecidien. Seiner Vermutung, daß daran die mangelnde Dehnbarkeit der Epidermis der oberen Blattseite schuld wäre, möchte ich mich nicht anschließen. Worin immer auch der Reiz der Gallbildung bestanden haben mochte, jedenfalls sind solche Beispiele interessante Belege dafür, daß Abweichungen von der gewöhnlichen Entwicklung keine Seltenheit sind.

**Fraxinusgalle:** Diese zeigt den allgemeinen Grundsatz, daß die Tiere „stets“ an der konkaven Seite sitzen, viel deutlicher. Der Mittelnerv und die mit „n“ bezeichnete Zone (Fig. 29) ausgenommen, ist die vergallte Zone mit Stichen bedacht; es darf allerdings nicht verschwiegen werden, daß es Gallenzonen gibt, für welche ich gar keine Stiche auf lange Strecken habe finden können, während andere damit reichlich besetzt waren. Diesen Gegensatz schwächt hier, gleich *Prunus*, allerdings der Umstand ab, daß viele der aufgefundenen Stiche zufolge ihrer Jugend für dieses Gallengewebe nicht mehr ätiologisch in Betracht kommen können.

**Aphis oxyacanthagalle:** Insofern entspricht diese Galle der „Regel“ am reinsten, als sämtliche Stiche von der Unterseite, mithin Galleninnenseite, erfolgt sind. Die große Veränderlichkeit der Querschnittsbilder ist auffallend; unter Beibehaltung der allgemeinen Richtungstendenz nehmen die einzelnen Rollenpartien mannigfache Gestalt an, und auffallend ist die Störung, die der eine große Seitennerv in der einheitlichen Rollung, aufweist und durch seine Lage und die Bildung einer dorsalen Rinne die ganze Rolle in zwei verschieden stark entwickelte Rollen, bzw. eine Rolle und eine Rinne zerlegt. An diesem Nerv habe ich, gleich dem Mittelnerv, keine Stiche gefunden, während der analoge Nerv der anderen Seite mit Stichen versehen war. Die Verteilung der Stiche auf alle Gallpartien ist ziemlich regelmäßig. Warum an einer Stelle die Gallenwand gebräunt, dünn geworden, vertrocknet und abgestorben war, habe ich nicht ermitteln können. Eine Beziehung solch toter Stellen zu bestimmten Stichen besteht nicht.

**Aphis pomigalle.** In den drei der allgemeinen Rollung entgegengerichteten, dorsalen Stichen möchte ich nicht die Ursache erblicken dafür, daß der Blattrand nahezu eben läuft. Hierfür mag eher die schwache Infektion an der Ventralseite (Fig. 1, C) schuld sein.

**Prociphilus xylosteigalle.** Die Mehrzahl der Stiche entspricht der Blattrollung im allgemeinen, etliche dorsale liegen ihr entgegen. Ob und inwieweit dorsale Stiche neben dem Mittelnerv die geringere Krümmung dortselbst bedingt haben, bleibt fraglich. Der Blattrand, der jüngeres Gewebe zeigt, ist auffallenderweise viel stärker gekrümmt, obwohl die Zahl der Stiche dort nicht größer ist als an anderen Partien.

Mit diesen Betrachtungen haben wir uns insofern auf einem Nebengeleise befunden, da die Anerkennung der Möglichkeit, daß jeder einzelne Stich bestimmte begrenzte Reaktionen bestimmter Zellen ohne Rücksicht auf die allgemeinen Prinzipien der Entwicklungsmechanik der Rollgallen hervorruft, die im zweiten Hauptkapitel festgelegte Grundtatsache, daß jede Rollgalle durch die Mobilisierung bestimmter Bewegungsgewebe entsteht, illusorisch machen würde. Nur z. B. für die Blattflügel der *Prunus* galle des 1. Typus mag diese Methode Berechtigung haben, weil dort die primären Aktivitätszonen durch den Grad der Vergallung bereits völlig verwischt sind. Es genügt demnach keineswegs die Feststellung, die Stiche entsprechen der allgemeinen Blattrollung oder nicht, sondern wir müssen noch untersuchen, ob die Verteilung der Stiche eine Gesetzmäßigkeit insofern zu erkennen gibt, daß in bestimmter Entfernung von ihnen die aktiven Gewebe entstehen. Davon hängt viel ab, weil die Erkenntnis einer solchen eventuellen Abhängigkeit für die Art des Reizes, den die stechenden Tiere ausstrahlen lassen, und namentlich für die Ausbreitung des Reizfeldes wichtige Schlüsse gestatten würde, und besonders uns zwingen würde, die bisher angenommene dominierende Rolle aktiver Gewebe als zwar von außen angeregte, aber doch nach eigenen Prinzipien durchgeführte Leistung der Pflanze selbst in etwas einzuschränken.

#### Die Stiche in Beziehung zu den mobilisierten Aktivitätszonen.

Die *Prunus* galle des 2. Typus (beim 1. Typus kommt nur der Mittelnerv in Betracht, der keine klare Deutung zuläßt und die Stiche an der Spreite betreffen bereits ein Tertiärstadium unter Ausschaltung primärer Potenzen) hatte außerordentlich deutlich als Bewegungsgewebe das ventrale Nervenparenchym der größeren Nerven gezeigt. Fig. 30 läßt jedoch erkennen, daß nicht die geringste Beziehung desselben zur Stichlage besteht. Die schärfste Knickung rechts unten hatte über eine weite Beobachtungszone überhaupt keinen Stich gezeigt; an den übrigen Punkten stachen die Tiere gänzlich unregelmäßig, bald wurden Nerven, bald das Mesophyll getroffen.

Die *Aphidengalle* auf *Lonicera* zeigt analog das aktive Gewebe an der Ventralseite der Nerven, und zwar zeigen hauptsächlich drei Nerven starke Knickungen. Bei zweien von ihnen überwiegen die Stiche von der Unterseite, also in das im Wachstum geförderte Gewebe hinein, bei dem dritten (Fig. 28 bei D links oben) sind die Stiche von der Oberseite her in der Übermacht, und dennoch krümmt sich auch hier die Spreite unter dem Drucke eines ventralen Bewegungsgewebes nach oben. Weitere zwischenliegende Nerven zeigen diese Erscheinungen noch viel schwächer, bei anderen wieder bleibt jede Lageveränderung der Spreite in ihrer Umgebung aus. Etwa für den linken Nerv bei B zu sagen: die Wirkungen der dorsalen und ventralen Stiche heben einander auf, weil die Stiche zahlenmäßig einander die Wage halten, verbietet der früher betrachtete Nerv bei D, wo, trotz des entgegengesetzten Verhaltens der Stichverteilung wie beim Mittelnerv, doch dieselbe Enderscheinung zutage tritt. Alle übrigen Stiche machen eine klare Deutung ihrer Beziehung zu den Bewegungsgeweben unmöglich. Hier auf die Knospenlage zurückzugreifen, halte ich nach den ausführlichen Betrachtungen über dieselbe für überflüssig und wertlos.

Schließlich müssen wir uns fragen, wieso es kommt, daß die zahlreichen ventralen Mesophyll- und kleinen Nervenstiche keine dorsale Aktivität ausgelöst haben? Eine Antwort darauf läßt sich vorderhand nicht finden. Mag auch der Hinweis auf die hauptsächlichste Entfaltung dieser Stiche im Palisadengewebe teilweise befriedigen, so ist dieses Prinzip doch nicht einheitlich und durchgreifend, denn die, wenngleich schwache, Erhebung bei B und C steht hierzu in unverkennbarem Widerspruch. Alle Versuche, die Bewegungsgewebe zu den Stichen in eine eindeutige Beziehung zu bringen, bleiben mithin erfolglos.

**Fraxinusgalle.** Entspricht hier auch die Lage der Stiche zur dorsalen Zone der Regel im allgemeinen, so muß doch auffallen, daß diese Aktivitätszone im großen und ganzen einen sehr regelmäßigen Gewebemantel darstellt, auch dort, wo Stiche sehr spärlich waren oder fehlten. Ferner findet sich dieser Mantel auch dort, wo die Tiere dorsal eingestochen haben. Eine Beziehung zwischen Stichverteilung und Entwicklung der Aktivitätszone läßt sich um so weniger finden, als die Stiche ätiologisch zum großen Teile nicht mehr in Betracht kommen. Namentlich ist es unmöglich, eine Abstufung in der Entwicklung der großen Hypodermis in bestimmten Abständen der Stiche zu konstatieren.

Die **Aphis oxyacanthaegalle** stimmt im allgemeinen mit dem für die **Fraxinusgalle** Gesagten überein. Die etwas regelmäßigere Verteilung der Stiche würde eher die Entwicklung des dorsalen Aktivitätsgewebes rechtfertigen. Der eine, durch schwache ventrale Aktivität ausgezeichnete Seitennerv zeigte keine Stiche, der entsprechende der anderen Seite trug Stiche, ermangelte aber ventraler Aktivität. Daraus aber eine Bedeutung ventraler Stiche ins Nervenparenchym für die Entwicklung oder Unterdrückung der ventralen Bewegungsgewebe abzuleiten, wäre, im Hinblick auf die Aphidengalle auf **Lonicera** u. a., ein verhängnisvoller Fehler.

Die beiden Gallen des **Primärstadiums** zeigen eine gemeinsame Eigentümlichkeit. Wir wissen, daß in ihnen noch beide Aktivitätszonen lebendig sind, eine dorsale des Palisaden- und eine ventrale des Nervenparenchyms, und da läßt die Eigentümlichkeit, daß fast alle Stiche auf die Nerven beschränkt sind — die dorsalen spielen zufolge ihrer Minderzahl eine geringe Rolle — den Gedanken naheliegend erscheinen, daß von hier aus die Reize sowohl die ventrale als auch die dorsale Aktivität wachgerufen hätten.

Es wäre somit naheliegend, zu denken, daß demgemäß auch bei der Aphidengalle auf **Lonicera** die ventrale Aktivität durch die ventralen Stiche verursacht wäre; doch finden sich hier zahlreiche größere Nerven, die ventral stark angestochen, dorsal schwächer, trotzdem eine deutliche Nachuntenkrümmung des Blattes hervorrufen, während der Mittelnerv der Aphidengalle bei gleicher Stichverteilung eine scharfe Nachobenkrümmung der Spreite zur Folge gehabt hatte. Der Mittelnerv zeigt an der **Prociophilusgalle** eine annähernd gleiche Verteilung der Stiche von der Ober- und Unterseite her, und leitet eine deutliche Nachuntenkrümmung ein, während dieselbe Verteilung der Stiche an der **Lonicera-Aphidengalle** (bei B) die anschließenden Spreitenteile wagrecht läßt.

Der völlige Mangel an Stichen von der Ventralseite her in das Mesophyll (die dorsalen können der „Regel“ zufolge nur als Hemmung gelten) läßt es jedenfalls unverständlich erscheinen, wieso trotzdem die dorsale

Aktivität ganz energisch zur Geltung kommt; eine gleichförmige Verteilung der Stiche ähnlich der der *Aphis oxyacanthae* galle ist hier absolut nicht vorhanden. Die dorsale Aktivität der Gallen des Primärstadiums aber entscheidet über die Bedeutung der Stichverteilung bei den oben genannten Zylindergallen des Sekundärstadiums in ablehnendem Sinne. Mein oben gemachter Versuch aber, an Stelle der Einstichseiten die Zonen stärkster Stichkanalentfaltung zu setzen und in ihnen die Punkte der Hemmung zu sehen, bedeutet bei konsequenter Durchführung nur eine Umkehrung für alle diese Fälle und vermag für die unwiderleglich feststehende Tatsache, daß in der Mehrzahl der Fälle die Parasiten in den Rollen drinnen sitzen, keine befriedigende Erklärung zu geben.

Als wesentlichstes Ergebnis der letzten Argumentationen aber folgt unzweifelhaft, daß die Lage der Stiche zur Entstehung der aktiven Gewebe und Mobilisierung der latenten Aktivitätszonen in keinem, wie immer gearteten, eindeutigen Zusammenhang stehen. Aus allen den 6 Gallen war es möglich, für irgendeine Auffassung zugleich auch den Beweis für, wenn wir so wollen, die Richtigkeit des Gegenteiles zu erbringen und damit die Unstichhaltigkeit irgendeiner vorgefaßten Meinung zu demonstrieren: Weder mit der Lokalisierung der Stiche, noch mit deren Vermehrung oder Verminderung in der unmittelbaren oder weiteren Entfernung der Aktivitätszone oder in ihnen selbst, noch mit ihrer Entfaltung an der aktiv werdenden oder der gegenüberliegenden Seite lassen sich die mobilisierten Bewegungsgewebe in irgendeinen klaren Zusammenhang bringen. Mit anderen Worten: Wir müssen den Versuch aufgeben, in den Tieren selbst die Ursache für bestimmte Entwicklungen an der Galle zu suchen, und werden uns damit begnügen müssen, dem Tiere, wohl dem Speichelsekret, Wirkungen bestimmter Art zuzuschreiben, als deren Folge zwar reaktiv auf den Reiz, aber doch aktiv, also selbständig, zugleich latente Entwicklungsmöglichkeiten mobilisiert werden und so die interessanten Bewegungsgewebe entstehen, zwar unter äußerem Zwange, aber doch nach eigenen Bedürfnissen und Fähigkeiten des Pflanzenorganes gebildet. Bevor wir zu den herrschenden Theorien Stellung nehmen, sei noch der Beziehungen gedacht, die — ganz abgesehen von dem Rollungsphänomen — zwischen Stichzahl und Intensität der Vergallung walten.

#### Zahl der Stiche und Intensität der Vergallung.

Betrachten wir nun unsere schematischen Bilder noch ein letztes Mal. Die zahlreichsten Stiche hatte die Aphidengalle auf *Lonicera*; ihr folgten hinsichtlich Stichzahl: Die *Prociphilus xylostei*-, die *Aphis pomi*-, weiters die *Aphis oxyacanthae*-, schließlich die *Fraxinus*- und endlich die *Prunus*-Galle. Vergleichen wir diese Ziffern mit dem Grade der Vergallung, so zeigt sich die überraschende Tatsache, daß die stärker vergallten, völlig veränderten Gewebe durchschnittlich viel weniger Stiche zeigten, als die annähernd normalen Blattbau behaltenden Gallen des Primärstadiums. Wir sehen mithin, daß die hinsichtlich der abgesonderten Speichelmengen ganz ungeheuerlich auftretenden Aphiden auf *Lonicera* beispielsweise viel weniger auszurichten vermochten, als die spärlichen Stiche, die die drei zuletzt genannten Gallen auf-



weisen, und daß gerade die Gallen des Primärstadiums trotz ihrer geringen anatomischen Veränderungen viel reichlichere Stiche zeigen, als die stärker vergallten Blattrollen. Dazu kommt, wie schon wiederholt betont, die Tatsache, daß ein großer Teil der Stiche, die sich an stark abgeleiteten Geweben beobachten lassen, für die Vergallung bis zum Zeitpunkt der Konservierung nicht mehr in Betracht kommen konnte, da sie schon in „fertiges“ Gallengewebe geführt waren. Es schrumpft mithin die spärliche Zahl der Stiche, z. B. an der *Prunus*- und *Fraxinus*-galle, als ätiologische Agenzien noch weiter zusammen; von den 13 in Fig. 30 eingezeichneten kommen höchstens 3—4 unmittelbar in Betracht, also außerordentlich wenige, so wenige, daß unsere Bemühungen, aus der Stichverteilung eine Gesetzmäßigkeit herauszulesen, schon dadurch zunichte werden mußten. Und hierfür sind die Beobachtungen, die wir dem scharfen Blick eines Peyritsch (74) über die Chloranthien an *Arabis*-arten unter dem Einflusse von Blattläusen verdanken, von besonderem Werte. Seinen Versuchen ist es gelungen, zu zeigen, daß eine ganz geringe Zahl von Tieren, selbst nur ein Tier genügt, um deutliche Vergrünungen der Blüten hervorzurufen. Den Unterschied im Effekte — dort organoide und hier histioide Gallen — möchte ich keineswegs zu hoch bewerten. Es genügt, zu wissen, daß nicht die Zahl das zu ersetzen vermag, was der Reizqualität des einzelnen Tieres abgeht, mithin die einzelnen Reize nicht gleichwertig sein können, nicht Glieder einer linearen Entwicklungsreihe von Fähigkeiten sein können, so daß etwa der Gesamteffekt qualitativ und quantitativ eine Summation unbedeutender Einzeleffekte bedeuten würde. Mag nun die Reizart auf chemischem Gebiete liegen, in bestimmten Eigenschaften des Speichelsekrets zu suchen sein, oder ein Verwundungsreiz sein, maßgebend ist stets nur die Relation zwischen Reizaktivität dieses Tieres und der Reizreaktivität dieser Pflanze auf eben diesen tierischen Reiz, woraus allein alle Gallbildungen erklärt werden dürfen. Wo immer eine solche spezifische Reizempfindlichkeit fehlt, dort spielt die Zahl der saugenden Tiere für die Vergallung (nicht zu verwechseln mit Erschöpfung und Vertrocknung durch Aussaugung) absolut gar keine Rolle. Parallel zur Beobachtung von Peyritsch stehen meine beiden *Aphis pomigallen*: Die eine, in Fig. 1 wiedergegebene war jung und reich mit Stichen besetzt, die zweite, im Texte besprochene, älter und außerordentlich arm an Stichen, und doch waren die Vergallungen in beiden Fällen von gleicher Art und gleichem Grade; die wenigen Tiere der zweiten Galle hatten dasselbe erreicht wie die zahlreichen der ersten, noch dazu jüngeren Galle; die letzteren haben demnach keine Potenzierung der Gallwirkung durch ihre Zahl erzielen können, wir sehen mithin wieder: die Art der Vergallung ist von der Zahl der Parasiten unabhängig.

Wenn demnach von stärkeren Infektionen gesprochen wird, wie z. B. H. Karny und J. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (42) [l. c.] es für *Gynaikothrips* auf *Piper Betle* annehmen, um ein einförmiges Parenchym zu erklären, so möchte ich doch nach meinen Beobachtungen davor warnen, multiplikative Wirkungen anzunehmen, denn wenn infolge starker Infektion irgendein Organ rascher zugrunde geht, so liegt stärkere und schnellere Erschöpfung, nicht aber potentierte Gallwirkung vor, und wo irgend außerordentlich energische Vergallungen

<sup>74</sup>) Peyritsch, J., Zur Aetiologie der Chloranthien einiger *Arabis*-arten. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 13. 1882.)

sich zeigen, dort hat außer Reizaktivität und zugeordneter -reaktivität die Jugend des Wirtsorganes mitgesprochen.

Ich glaube auch, aus diesem Gedanken heraus, einst die *Tetranura ulmigalle* erklären zu können, denn es ist außerordentlich auffallend, daß ein einziges Tier, das Muttertier, sozusagen, schon die ganze Galle entstehen läßt, während die Leistungen der jungen Tiere der nächsten Generation doch außerordentlich bescheiden genannt werden müssen, die, wenn die Gallbildung unter einer solchen multiplikativen Wirkung in demselben Maße beschleunigt würde, zur Entstehung viel größerer Kugeln und Proeminenzen Anlaß geben müßten. Freilich darf nicht vergessen werden, daß das Muttertier jüngerer, noch aktiveres Gewebe zur Verfügung hat und daß Correlationen schließlich einen Entwicklungsstillstand herbeiführen könnten. Das Muttertier andererseits anders organisiert zu wähen, als die jungen, liegt nicht der mindeste Anlaß vor.

Die Tatsache aber, daß ein oder einige wenige Tiere genügen, um die ganze Galle von typischer Gestalt zu erzeugen, beweist aufs neue, daß die pathologische Aktivität der Pflanzenorgane und -gewebe eine Erscheinung ist, die zwar auf den tierischen Reiz hin ausgelöst wird, sich aber dennoch selbständig abwickelt und — vermutlich im Banne neuer Korrelationen — das Blatt schließlich zur typischen Galle formt. Demnach kann, wie die vergeblichen Versuche einer Entwirrung des Problems zeigten, gar kein direkter Zusammenhang zwischen Stichverteilung und pathologischer Entwicklung der Pflanzengewebe im Banne bestimmter Gesetzmäßigkeit bestehen. Warum die Mehrzahl der Blätter sich so rollen, daß die Tiere in den Hohlraum hineinkommen, das läßt sich derzeit noch nicht entscheiden, weil die bestehenden Erklärungsversuche der Kompliziertheit des Phänomens viel zu wenig Rechnung zu tragen pflegten.

### Resumieren

wir demnach das bisherige Urteil über die Blattlausrollgallen, so ergeben sich folgende Anschauungen:

Die Entstehung der Blattrollgallen führt sich auf den Stich der Aphiden zurück. Die Art der Vergallung ist bedingt durch die Reaktivität der Pflanzenzellen auf die Aktivität eines bestimmten Gallreizes, unabhängig aber von der Zahl der Parasiten. Auf diese Doppelbedingtheit haben besonders scharf Küster und Herbst (45) [l. c.] hingewiesen. Herbst erklärt aus diesen beiden Momenten „Beschaffenheit des Reizes und Beschaffenheit des reagierenden Organismus“ die große Mannigfaltigkeit sämtlicher Gallen: „Hieraus ergibt sich ohne weiteres, daß dasselbe Organ je nach der Beschaffenheit des formativen Reizstoffes die verschiedensten Gebilde hervorbringen kann und daß andererseits von demselben Reiz an differenten Substraten“ — und ich will hinzufügen, nicht nur Pflanzen, sondern auch Organen derselben Pflanze — „verschiedene Effekte erzielt werden können“.

Eine Blattlaus, und mögen ihre Stiche noch so spärlich sein, ruft dieselbe typische Galle hervor, wie deren Hunderte. Auch die Blutlausgallen machen nach meiner Überzeugung davon keine Ausnahme, denn die kolossale Ausdehnung einer Galle von bestimmtem Bau ist nicht identisch mit ihrem Typus. Daß diese

Gallen immer so groß werden, ist eine unmittelbare Folge der Vergrößerung der Infektionsfelder durch zahlreiche nebeneinander wohnende Kolonien, beweist aber nichts gegen die Auffassung, daß auch eine einzelne Blutlaus solche Veränderungen hervorzurufen vermag. Experimente mit isolierten Tieren und nachherige Untersuchung der Infektionsstelle würden darüber unzweifelhaft Aufschluß geben. Eine andere Frage ist es allerdings, ob sich isolierte Tiere aus biologischen Gründen längere Zeit vereinzelt halten lassen. Natürlich dürfen nur junges Gewebe, junge Apfeltriebe, nicht aber alte Krebse dazu genommen werden, wie ja Neugründungen von Kolonien ebenfalls nur an jungen Trieben erfolgen. Die Summationswirkung besteht hier, abgesehen von der Vergrößerung der Gallenzone, darin, daß die Blutläuse durch konstante und kontinuierliche und zugleich räumlich ausge dehnte Infektion durch viele Generationen sich auch auf altem Holzgewebe durch lange Zeit teilungsfähig erhalten können, was der einzelnen Blutlaus, schon mit Rücksicht auf ihre kurze Lebensdauer, also aus biologischen, nicht aber aus physiologischen Gründen, nicht möglich wäre. Daß dann nachträglich, wenn das Gewebe eines Baumes schon den Charakter von Dauergewebe angenommen hat, eine einzelne Blutlaus nichts auszurichten vermag, ist selbstredend; aber auch die größte Kolonie würde ohnmächtig bleiben.

Es ist demnach unrichtig, zu sagen: Durch eine starke und zahlreiche Infektion gehen Gallen hervor, weil die Zahl, mithin die Quantität, niemals die Qualität zu ersetzen vermag. Von außerordentlichem Einfluß ist ferner die Jugend der pflanzlichen Gewebe. Wenngleich im allgemeinen die Stiche mit der konkaven Seite zusammenfallen, so gibt es doch bemerkenswerte Ausnahmen, die es nahelegen, nicht die Einstichseite, sondern die Zone stärkster Saugtätigkeit als Hemmungszone zu fixieren. Gleichwohl steht eine befriedigende Erklärung noch aus.

Die Reaktion der Pflanze besteht einmal in der Rückdifferenzierung der Zellen im Sinne der Kataplasmen und gleichzeitiger Aktivierung latenter, dorsaler und ventraler Aktivitätszonen, deren Auftreten oder Unterdrückung verschiedene Entwicklungsstadien der Gallrollen unterscheiden lassen. Die pathologische Reaktion der Pflanze läuft demnach gesetzmäßig ab und bildet ein entwicklungsmechanisches, rein pflanzenphysiologisches Problem. Demnach besteht kein Zusammenhang zwischen Stichverteilung und Mobilisierung der bestimmten Aktivitätszonen.

Einen entfernten Gedanken an die Möglichkeit, daß in der Pflanze a priori bestimmte Aktivitätszonen gegeben sein könnten, hat bereits Küster (54) ausgesprochen. Mit der Diffusion des Gallengiftes ließe sich nach ihm in Einklang bringen, daß das abnorme Wachstum der Pflanzenzellen in verschiedenen Abständen von der Infektionsstelle verschieden stark sein könnte. Für die Frage nun, wodurch die relative Hemmung des Wachstums der Seite, an welcher der Parasit sitzt, bedingt wäre, gibt er zwei Vermutungen Raum. Einmal denkt er an die Möglichkeit, daß an den von Parasiten besetzten Stellen von diesen den Zellen fortwährend Stoffe entzogen werden: „die Herabsetzung des Turgors, die Entziehung von Nährstoffen durch die saugenden

Tiere könnten bereits genügen, um das Wachstum der angezapften Zellen und Gewebe zu verlangsamen. „Es wäre aber auch — und diese Auffassung ist sehr interessant — an die Möglichkeit zu denken, daß eine verschiedenartige physiologische Veranlagung der oberen und unteren Blattschichten ihre Zellen auf den gleichen Reiz mit verschieden intensivem Wachstum reagieren ließe und daß bei der Bildung der Gallen infolgedessen immer eine bestimmte Seite bevorzugt werden müsse.“ Seine erste Auffassung, — wir werden noch darauf zurückkommen — steht für Aphidiocecidien im Widerspruche zu meinen Beobachtungen über das Saugen der Tiere. Es ist nicht anzunehmen, daß bei so wenigen Schichten eine Differenziation in der Ausaugungsenergie vorliegt, zumal notorisch die näher liegenden Zonen weniger stark besucht werden, als die entfernteren und namentlich die mittleren; es ist ferner nicht anzunehmen, daß auf so kurzen Distanzen, wie sie die Dicke des Blattes zeigen können, schon Verschiedenheiten in der Reizintensität zur Geltung kämen, wo doch die oft bedeutende Entfernung einzelner Stiche mit Rücksicht auf die gleichmäßige Vergallung der Zwischenzone den Stichen eine viel größere Reizaktivität von annähernd gleichmäßiger Entfaltung zuzuerkennen zwingt. Wir sehen uns vielmehr gezwungen, in der Mehrzahl die physiologische Veranlagung der Blätter für bestimmte Rollungen verantwortlich zu machen.

Der Reiz, den der Parasit ausübt, muß, wie wir bereits wissen, kontinuierlich wirken, soll die neue Entwicklungsrichtung beibehalten werden und nicht ein Rückschlag in die normale Bahn eintreten. Zur Überzeugung, daß zur Vollendung der Galle bis zur typischen Gestalt die kontinuierliche Wirkung des pathogenen Reizes nötig ist, war schon L. Courchet (10) [l. c.] gekommen. Es leuchtet ihm in solchen Fällen ein, daß der Tod oder das zufällige Verschwinden des Parasiten die Ursache für den Wachstumsstillstand der Galle darstellt: „La présence de l'insecte, et l'action sans cesse renouvelée de son venin seraient donc nécessaires au développement complet des galles.“ Das bekannteste Beispiel sind die im Frühjahr häufigen, unfertigen Gallen der *Tetraneura ulmi*.

Die verschiedene Verteilung der Stiche in Beziehung zu den Blattnerven ist ätiologisch belanglos, weil sie nicht die Ursache, sondern schon die Folge der Vergallung darstellt, mithin nur tierphysiologisches Interesse hat. Eine hypothetisches Gallengift dürfen wir nicht im Sinne eines formativen Gallvirus auffassen. Das Résumé gipfelt in der Erkenntnis, daß die Aphidengallen nichts anderes als mobilisierte Entwicklungsmöglichkeiten, sei es im phylogenetischen Sinne (Vergrünungen an Blüten, caulomartige Umgestaltung der Salixblätter), sei es in anderer Hinsicht, darstellen, für welche die Gallreize selbst wohl in erster Linie Auslösungsreize sein dürften. Zu den Theorien über die Art des Reizes Stellung zu nehmen, ist dem letzten Kapitel vorbehalten.

#### Wodurch ist der Parasit zu wirken imstande?

Réaumur hat schon im Jahre 1737 den Versuch unternommen, die Erscheinung der Gallrollen u. dgl. ursächlich zu erklären. Er sah das Um und Auf im Eingreifen des Parasiten darin, daß das Saugen an irgendeiner Stelle einen abnormen Saftstrom zur Folge hat; da aber dieser Saft ununterbrochen an der Saugstelle entzogen wird, muß sich schließlich das

Blatt oder der Stengel nach der entgegengesetzten Seite ausbiegen, so daß das Insekt schließlich in die Höhlung hineinkommt\*). Um die Mitte des 19. Jahrhunderts hatte nun *Lacaze-Duthiers* (56) [l. c.] der Auffassung Raum gegeben, daß die Gallen verschiedenen Giftwirkungen ihre Entstehung verdanken. Obwohl er zu klaren Anschauungen, speziell für die saugenden und stechenden Insekten, gelangt war, meint er doch, daß auch Pflanzenläuse in ähnlicher Weise ein Speichelsekret absondern würden. Freilich war der damalige Stand der Forschung noch nicht „tellement complète qu'on ne puisse dire qu'il n'existe pas de glandes salivaires versant dans la plaie un suc à propriétés spéciales.“ Etwa 20 Jahre später beschäftigt sich mit derselben Frage *Thomas* (97) [l. c.], und zwar hauptsächlich unter Beziehung auf die Milbengallen, aber auch im Hinblick auf die Blattläuse, so daß wir uns mit seinen Ansichten beschäftigen müssen. Er stellt sich vor, daß durch den überreichen Saftzufluß die Gallen ausgedehnt werden und schließlich sich die Interzellularräume damit erfüllen. Der saugende Parasit entzieht nun der strotzenden Zelle Säfte, so daß dadurch der intrazelluläre Druck einseitig vermindert wird, was eine Rückwirkung ausüben muß. Der nicht kompensierte Druck des flüssigen Zellinhalts auf die der angesaugten Stelle diametral gegenüberliegende Wand bewirkt die Fortbewegung der Zelle selbst und des ihr im Wege stehenden Teiles der Blattspreite. So bekommt das Blatt an der betreffenden Stelle eine geringe Ausstülpung.

War diese Auffassung im wesentlichen ein Zurückgreifen auf die alte Theorie von *Réaumur*, so verschaffte *L. Courchet* sieben Jahre später der Auffassung von der chemischen Beeinflussung des Wirtes durch den Parasiten neuerdings Geltung. Die Frage, ob man eine mechanische Beeinflussung oder lediglich eine Giftwirkung annehmen solle, erledigt er mit folgenden Ausführungen: „Quoi qu'il en soit, prises l'ecclusion l'une de l'autre ces deux théories me paraissent également insuffisantes; car il est probable que d'action mécanique n'a qu'une faible part lorsqu'il s'agit des galles autres que les galles en vessie ou en bourse que causent les Aphidiens, il n'en est pas de même, à mon avis lorsqu'il s'agit de ces derniers productions. Mais ici j'admets..... qu'à l'influence toute mécanique se joint celle d'un venin spécial fournie chez le puceron par un organ encore ignoré, par les glandes salivaires peut-être.“ Noch ausgeprägter findet sich diese Auffassung 1881 bei *Derbès* (11) [l. c.]. Der Anblick der verschiedenen *Pistaciengallen* bestimmt ihn zur Überzeugung von der Notwendigkeit eines Gallvirus „non seulement pour la confection des galles, mais encore pour la formation de chaque galle; car chaque sorte de galle a une forme et un aspect différentes, quoique toutes soient faites aux dépens d'une foliole.“

Neben Verletzungen als Ursache für die Mißbildungen des Blattstieles, legt nun *Peyritsch* (74) [l. c.] im folgenden Jahre dem Sekrete eine fast übergroße Bedeutung bei. Er stellt sich vor, daß ein solches Sekret von der Pflanze aufgenommen wird und spezifisch wirkt. Dafür, daß die Form der Gallen eine mannigfaltige ist, macht er die verschiedene Natur des von der Pflanze absorbierten Sekretes verantwortlich, denn er ist der Überzeugung, daß die verschiedenen Tiere nicht gleiche Sekrete absondern und „daß Bildungsabweichungen und speziell Chloranthien ganz heterogener Natur an

\*) Hierüber und über die Ansichten anderer älterer Autoren verweise ich auf das Gallenwerk *Küsters* p. 256 ff.

einer und derselben Art durch verschiedene Tiere verursacht werden können.“ 10 Jahre später resumiert Laboulbène (55) im Sinne Lacaze-Duthiers und betont speziell für die Pflanzenläuse als Erreger von Gallen an Ulme, Pappel, Pistacia und Johanniskrautbaum das Vorhandensein eines giftigen Speichels, desgleichen für die Reblaus. Einen bedeutenden Fortschritt in allen Fragen der Gallbildung müssen wir in der 1895 erschienenen Arbeit von C. Herbst (34) [l. c.] erblicken. Er hebt darin klar hervor, daß die Reizreaktion durch innere Dispositionen bestimmt ist, welche der reagierende Körper zur Zeit der Reizwirkung aufweist (Spezifisches der Reizreaktion). Er erkannte, daß dieselbe Reizreaktion von verschiedenen Ursachen ausgehen kann, daß ferner dieselben Organismen auf denselben Reiz unter verschiedenen äußeren Bedingungen verschieden reagieren müssen.

Im Jahre 1900 sagt Küster (52) [l. c.] ganz allgemein, daß bei der Gallbildung zweifellos chemische Reize die Hauptrolle spielen, obwohl wir keinen triftigen Grund haben, physikalischen Reizen jede Bedeutung abzusprechen. „Wenn bei der Gallbildung mechanische und chemische Reize tätig sind, so könnte die Galle selbst in ätiologischer Hinsicht als eine Verquickung von Mechano- und Chemomorphose zu deuten sein.“ Für Hemipteren- und Diptereengallen führt Küster (51) [l. c.] 1903 die Entstehung des typischen Gewebes auf die Wirkung des Gallgiftes, das überwiegende Wachstum der einen Seite auf Ernährungsverhältnisse zurück. In seiner „Pathologischen Pflanzenanatomie“ (50) bezeichnet er für Milbengallen das Zustandekommen bestimmter Nährstoffströme von abnormer Richtung und auffallende Inhaltsfülle als Reizwirkung, welche nach der Infektion durch den Parasiten und unter dem Einflusse eines unbekannten, von ihnen gelieferten Giftes an den affizierten Zellen der Pflanze wahrnehmbar wird. Kataplasmatistische Gallen erscheinen ihm vielfach die Folge von Infektion durch Tiere, die frei an der Oberfläche des erkrankten Organes leben und bei ihren Wanderungen das Reizfeld „beliebig“ vergrößern können.

Keine ganz glückliche Lösung der Frage nach der Aetiologie bringen M. M. Guéguen und Heim (30) [l. c.] für die Blütencecidie auf *Lonicera*. Die beiden Forscher stellen sich vor, daß die Läuse eine gesteigerte Saftzufuhr und einen gesteigerten Stoffverbrauch verursachen, so daß beide in einem gewissen Gleichgewichte stünden: „La disparition complète brusque du parasite consommateur rompt brusquement l'équilibre qui s'est établi entre la consommation et l'apport des sucs nourriciers, la rupture s'effectue au profit de l'apport et ainsi s'explique par une influence tératogène tardive indirecte et à distance, due aux parasites, toute une série de faits de duplicature, de phyllodie, de pétalisation, de syanthie affectuant successivement tous les verticilles floraux.“ Dieser an und für sich unwahrscheinliche Erklärungsversuch gestattet schon deshalb keine Verallgemeinerung, weil die Blattläuse durch das Saugen und während des Saugens Gallen erzeugen, zu einer Zeit, wo doch infolge des Gleichgewichtes, das die beiden Autoren annehmen, keine Ursache hierfür gegeben wäre; andererseits würde diese Anschauung zur Folge haben, daß erst nach Verlassen der Pflanze seitens des Parasiten Gallen entstehen, was mit unserer Erfahrungstatsache in Widerspruch steht, daß Gallen nur so lange wachsen, als der Parasit „an der Arbeit“ ist und daß die Pflanze jede pathologische Weiter-

<sup>55)</sup> Laboulbène, M. A., Essai d'une théorie sur la production des diverses galles végétales. (Compt. rend. hebdomadaire des séances de l'académie des sciences. T. 114. 1892. p. 770.)

entwicklung einstellt, sobald der kontinuierliche Reiz des Parasiten, mag er nun worin immer gelegen sein, vorüber ist.

Die im Jahre 1910 erschienene Abhandlung von J. und W. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (17) [l. c.] bedeutet insofern einen wertvollen Schritt nach vorwärts, als der Pflanze eine größere aktive Bedeutung zugesprochen wird als früher. Die Verfasser halten dafür, daß neben den aktiven Eigenschaften jede Zelle der Pflanze noch latente Eigenschaften haben müsse und daß die Insekten zwischen diesen Eigenschaften gewissermaßen eine Auslese treffen. In dieser Formulierung kommt also bereits zur Geltung, daß die Gallbildung eine Folge der tierischen Infektion, aber doch der Hauptsache nach eine Leistung der Pflanze selbst darstellt, die unter fremdem Zwange eigenes Material nach eigenen Dispositionen umgestaltet.

Die Auffassungen, die Küsters Gallenbuch zugrunde liegen, sind wiederholt gestreift worden. Vor allem hält er, wie schon in früheren Schriften, daran fest, daß auch Wundreize, namentlich für die Stiche saugender Aphiden, angenommen werden müssen, die zur Bildung umfangreicher Wundgewebe führen können. Es war ihm allerdings nicht entgangen, daß in vielen Fällen freilich saugende Aphiden auf Pflanzen leben, ohne daß es zur Bildung von Gallen kommen würde: „Es wäre zu erwägen, ob in solchen Fällen durch bestimmte Wirkungen des Parasiten auf die Zellen des Wirtes die Bildung von Wundgewebe verhindert wird.“ Er verschließt sich aber keineswegs der Auffassung, daß wir in den Gallen nicht ausschließlich Traumatomorphosen, sondern auch Chemomorphosen zu erblicken hätten, indem ein nicht näher bekannter, vermutlich diffusionsfähiger Giftstoff auftritt, der als solcher und nicht bloß dessen Reiz von Zelle zu Zelle geleitet wird. „Dafür daß die dem Infektionszentrum fernliegenden Teile vom chemischen Agens selbst affiziert und nicht nur von einem zu ihnen geleiteten Reiz getroffen und zur Betätigung an der Gallbildung angeregt werden, scheint mir in vielen Fällen die spezifische Art ihres Reagierens zu sprechen, doch ist das auch anders möglich.“ Der Umstand, daß die Reaktion des Pflanzengewebes häufig in größerer Entfernung, ja zumeist nur in größerer Entfernung auftritt, führt Küster zur Annahme, daß ein solches Gift in unmittelbarer Nähe zu stark ist, und daß das Optimum erst in einiger Entfernung davon erreicht werden dürfte. Küster, der schon 1908 (53) [l. c.] dieser Auffassung ist, kann sich allerdings nicht der Tatsache verschließen, daß eine solche Giftwirkung in zahlreichen Fällen ausbleibt. Für solche Fälle nimmt er Neutralisierung des Giftstoffes an. Diesbezüglich lenkt Küster die Aufmerksamkeit auf die Aphiden und Cocciden, welche häufig keine Gallen bilden, obwohl von ihnen in vielen Fällen chemische Wirkungen ausgehen, welche auf die Abscheidung irgendwelcher giftiger Stoffe schließen lassen.

In jüngster Zeit hat Diels (12) [l. c.] zur Frage der Entstehung der Blütencecidien auf *Lonicera* neuerdings Stellung genommen, und zwar der Hauptsache nach in einem die Ansichten von Guéguen und Heim ablehnenden Sinne. Ein formativ wirkendes Sekret, eine „diastase stimulante“, wie sie die beiden Forscher annehmen, ist nach Diels nicht bemerkbar. Ein solches Exkret sei von ihnen nicht nachgewiesen, sondern nur vorausgesetzt worden. Über Aphidenexkrete bezieht er sich allgemein auf die Abhandlung von Büsgen, mit dem er eine Beeinflussung des Stoffwechsels des Wirtes durch derartige Absonderungen ablehnt. „Bei *Lonicera* zeigt sich, wie gesagt, in den morphotischen Reaktionen nicht ein einziges Merkmal, das den Eintritt fremder Substanzen andeutete, oder

ihre Annahme verlangte.“ Nach Diels führt der Parasitismus unmittelbar zu einem Verlust an Assimilaten, mittelbar zu einer Schwächung der Kohlensäureassimilation, möglicherweise zu einer Beschleunigung des Wasser- und Nährsalzstromes.

Im selben Jahre erschien eine interessante Arbeit von M. Molliard (71) [l. c.], die hauptsächlich auf der Basis von chemischen Untersuchungen, speziell an Aphidengallen, das Wesen der Gallbildung zu ergründen suchte. Das Verschwinden von Chlorophyll in den Gallen, das nach anderen Auffassungen als das erste Phänomen bei der Gallbildung bezeichnet wird, hält Molliard aus vergleichenden Untersuchungen an Gallen, paraschiereten Blättern u. s. f. für eine Sekundärererscheinung, für die Wirkung von proteolytischen Fermenten, die bei der Gallbildung die Hauptrolle spielen sollen. Die Reihenfolge der Prozesse wäre demnach: „Simplification par digestion des substances proteiques entraînant l'atténuation de la chlorophylle, d'où résulteraient une composition des cendres particulière, une plus grande teneur en eau, etc....; peut-être d'autre part faudrait-il faire dériver, parallèlement, à ces modifications entraînées par la disparition de la chlorophylle, la formation particulièrement abondante de tannin et de corps anthocyaniques dans les galls et les fruits de la décomposition des substances azotées complexes.“

Diesem Gedanken tritt nun in allerjüngster Zeit in einem durch die Verallgemeinerung der Gedanken und vielfache Abweichungen von den bisherigen Auffassungen sehr interessanten und wertvollen Buche Magnus (64) [l. c.] entgegen. Er sieht in den Schlußfolgerungen Molliards keinen Beweis dafür, daß dem vom Tiere ausgeschiedenen Sekrete infolge solcher Eigenschaften die ursächliche Rolle für solche Vorbildungen zugesprochen werden könnte; „so interessant dieser Unterschied in der chemischen Zusammensetzung der Gallen auch ist, braucht kaum hervorgehoben zu werden, daß sich daraus noch nicht auf die Wirkung des vom Tiere ausgeschiedenen Sekretes schließen läßt. Die besondere Form des Stoffwechsels kann ebenso gut ein ganz entferntes Glied der vom tierischen Parasiten ausgehenden Reizkette sein.“ Wenn Magnus weiterhin sagt, daß ihm der Gehalt des Gallentieres an diastatischen und proteolytischen Enzymen, den er selbst für die Cynipidenlarven nachgewiesen hatte, kein Beweis für einen Gallbildung erregenden Einfluß solcher Enzyme sein könne, da diese für die Larve selbst zur Verarbeitung der aufgenommenen Nahrung unentbehrlich sei, so möchte ich dem das Verhalten der Aphiden entgegenhalten, deren Speichelerguß ein außerordentlich enormer ist und bei denen die mächtige Scheidensubstanz, die schließlich sämtliche Stichkanäle erfüllt und deren Funktion sich nicht in Verdauungsarbeit erschöpft, auch keineswegs wieder zur Genüge vom Tiere aufgenommen wird, sondern zum großen Teile in der Pflanze als glänzende Substanz zurückbleibt. Daß das tierische Sekret ist, das sonach die Stichkanäle erfüllt, hat bereits Büsgen (6) nachgewiesen. Der Forderung von Magnus, durch das Experiment die gallenerzeugende Wirksamkeit solcher Fermente zu prüfen, stelle ich meine in der Einleitung erwähnten Bedenken gegenüber.

Immerhin hat sein Gedanke, daß seitens des Parasiten Stoffe in Betracht kommen können, welche die Wirkung von Enzymen hindern oder aufheben, manches für sich. „Die Aufhebung der für die Nahrungsabfuhr tätigen Enzyme

<sup>6)</sup> Büsgen, M., Der Honigtau. Biolog. Studien an Pflanzen und Pflanzenläusen. Jena 1891.



an lokal begrenzten Stellen muß zur Stoffanhäufung führen. Daß aber die Wirkung einer Überernährung und Gallbildung vielfach identisch ist, ist bekannt.“ Freilich bleibt zu beantworten, wie lange solche Antifermente wirksam sind. Bei der kolossalen Menge von Nahrungsentnahme seitens der Blattläuse ist es allerdings fraglich, ob, wenn durch die Tätigkeit solcher Antienzyme die normale Stoffleitung behindert würde, der Überschuß an Nahrungsstoffen hinreichend groß ist. Bestechend ist diese Erklärungsweise gewiß, immerhin könnte meines Erachtens die Tatsache, daß, soweit eine stoffliche Beeinflussung anzunehmen wäre, die Gallwirkung stets von dem sich ernährenden Tiere und nicht von einem einmal eingeführten Stoff ausgeht, auch auf andere Weise erklärt werden.

Gegen K ü s t e r s Theorie spezifisch wirkender Gifte zieht M a g n u s eifrig zu Felde. Im Gegensatz zu dem durch mechanische Verwundung entstehenden ersten Stadium der Gallbildung bei Tenthredinen und Chalciden fand sich bei den Cynipiden allerdings ebenfalls ein Giftstoff, ein Eiweißtoxin, dessen Wirkung die Lysenchymbildung ist, dem jedoch M a g n u s keine spezifischen morphogenen Eigenschaften zusprechen will. Er hält vielmehr dafür, daß die Gallbildungen unter komplizierten Stoffumlagerungen in den Symbionten entstehen dürften, die den in der normalen Entwicklung auftretenden Korrelationserscheinungen durchaus an die Seite zu setzen sind, und daß die Anwesenheit spezifisch wirkender, organbildender Stoffe unerwiesen ist, sondern es sich um höchst komplizierte Stoffwechselvorgänge handelt (63). In den Bedenken gegen K ü s t e r s Einteilung der Gallen in Osmo-, Traumato-, Tropho- und Chemomorphosen möchte ich M a g n u s allerdings recht geben. Auch ich halte es für unstatthaft, dann, wenn die Gallen mit anderen Formanomalien als experimentell herbeigeführten Störungen übereinstimmen, den Gallenerzeugern gleiche Fähigkeiten zuzuschreiben und dann auf die Wirkungen eines spezifischen, vom Gallenerzeuger gelieferten Giftstoffes zu verzichten, wenn andere Erklärungsmöglichkeiten vorliegen, denn mit H e r b s t müssen wir unbedingt daran festhalten, daß verschiedene Ursachen gleiche Resultate erzielen können. In Konsequenz seiner Bekämpfung spezifischer Giftstoffe geht M a g n u s soweit, zu behaupten, daß der Unterschied zwischen normaler Anatomie und Gallbildung im wesentlichen darin zu sehen sei, daß bei ersterer eine ständige Wechselwirkung lebender, artgleicher Zellen vorliegt, während die Gallbildung unter einer solchen Wirkung artfremder Zellen gedacht werden muß.

Meine Untersuchungen über das Saugphänomen haben zunächst ergeben, daß der Saugprozeß ein kontinuierlicher ist, daß nicht bloß etwa eine bestimmte, dem Borstenbündel vorgelagerte Zelle, sondern sämtliche im Umkreis liegenden Zellen mehrerer Schichten gleichzeitig in Anspruch genommen werden, so daß auch mit Rücksicht darauf, daß die Stiche nach allen Richtungen hin Verzweigungen erfahren, mit einer ziemlich gleichmäßigen und durchgreifenden Aussaugung ganzer Gewebe-Komplexe gerechnet werden muß. Die Folge dieser Erkenntnis ist, daß wir nicht gut annehmen dürfen, daß die eine Blattseite schwächer ausgesaugt wird als die andere, an der das Tier sitzt, weil die Stiche zumeist bis gegen die andere Seite vordringen und gerade dort stärkere Verzweigungen erfahren. Aus dieser Erkenntnis heraus lehnen sich die ersten, auf rein mechanischer Basis stehenden Erklärungsversuche von T h o m a s u. a. von selbst

<sup>63)</sup> M a g n u s, W., Experimentell-morphologische Untersuchungen. II. Zur Ätiologie der Gallbildungen. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 21. 1903. p. 129.)

ab, soweit wenigstens Blattläuse als Gallenerreger in Betracht kommen. Ebenso halte ich aus früher erörterten Gründen die Ansichten von G u é g u e n und H e i m für einen höchst gezwungenen, unwahrscheinlichen Erklärungsversuch.

Die immer greifbarer zutage tretende Beachtung eines speichelartigen Sekretes in Verbindung mit der Gallbildung ließ es naheliegend erscheinen, in diesem Sekrete die Ursache für die Vergallung der Gewebe zu erblicken. Vorerst sei aber noch der Möglichkeit gedacht, daß die V e r w u n d u n g selbst, als der Hauptsache nach mechanischer Reiz, die Gallbildung anregen könnte. In letzter Zeit haben besonders B u s c a l i o n i und M u s c a t t e l l o (5) [l. c.] auf die mannigfaltigen Reaktionen verwundeter Gewebe hingewiesen, und in der theoretischen Gallforschung wird dem Wundreiz eine Hauptrolle zugeschrieben, schon deshalb, weil es, wie wir annehmen dürfen, keine Gallen gibt, bei denen nicht eine Verwundung des Gewebes vorausgeht. Für die Blattläuse sind nun, wie ich glaube, diese Verwundungen ziemlich gleichartiger Natur. Durch die vorwiegende interzellulare Saugmethode kommt es zu einer Durchstechung der Epidermisaußenwand und dann vorzugsweise zu einer Spaltung der Zellwände längs deren Mittellamellen, in geringerer Ausdehnung wohl auch zu einer Durchbohrung der Zellen selbst. Im übrigen aber ist diese Beschädigung eine ziemlich gleichförmige, so daß man qualitative Verschiedenheiten im Wundreiz durch saugende Blattläuse kaum wird annehmen dürfen. Fraglich ist es allerdings, wie die Pflanze darauf reagiert. Und ich kann mich der Auffassung nicht verschließen, daß auch die Reaktivität derselben Pflanze auf diesen mechanischen Reiz nur graduelle Abstufungen bestimmter Reaktionsmethoden zeigen kann, in dem Sinne, daß ein und dieselbe Pflanze durch die Verwundung in der ihr eigenen Weise reagiert, und zwar um so stärker, je größer die Zahl der Wunden ist, verschiedene Pflanzen sich aber verschieden verhalten werden. Die Blattlausart, die diese Wunde erzeugt, wäre hierbei gleichgültig, solange die Größe, Zahl und Verteilung der Wunden durch die verschiedenen Tiere annähernd die gleiche bleibt. Spielt nun hinsichtlich chemischer Reize jedes Tier (jede Art) seine eigene Rolle, so können die von ihnen erzeugten Verwundungen an einer und derselben Pflanzenart nicht prinzipiell verschiedene Reize erzeugen. Liegt nun lediglich eine Verwundung vor, so müßte man annehmen, daß beispielsweise die Art der Reaktion seitens der *Lonicera* blätter auf die beiden betrachteten Blattlausarten eine gleichgerichtete wäre, sowohl hinsichtlich der Zellen- und Gewebeumgestaltung im Sinne der Rückdifferenzierung, als auch in bezug auf die endgültige Blattkrümmung, da doch die Tiere in beiden Fällen hauptsächlich von der Unterseite her stechen und von der Pflanze weniger die immerhin nicht bedeutende Auseinanderdrängung der Zellen längs einer schmalen Rinne senkrecht zur Stichrichtung, als vielmehr die Hin- und Herbewegung der Borstenbündel als mechanischer Reiz empfunden werden dürfte, die in beiden Fällen übereinstimmte. Das Kontinuierliche dieser Reize wäre in der beständigen Unruhe des Borstenbündels während des Saugens zu suchen. Da, um ein zweites Beispiel zu bringen, das Apfelblatt auf die beiden untersuchten Blattläuse zwar mit derselben Krümmungsrichtung, aber einer außerordentlich verschiedenen Intensität der Gallbildung antwortet, obwohl in beiden Fällen die Blätter zur Zeit der Infektion noch jugendlich und wachstumsfähig waren, müßte man annehmen, daß die stärkere Vergallung, wenn tatsächlich die Verwundung als solche ausschlag-

gebend ist, eine Folge größerer Stichzahl, also größerer Blattlausbesiedelung wäre, da doch der Reiz dadurch eine Steigerung hätte erfahren müssen, womit auch die Reizreaktion größer geworden wäre, mindestens aber nicht hinter derselben bei der Vergallung mit geringer Stichzahl hätte zurückbleiben dürfen. Wie wir aber wissen, liegen die Dinge gerade umgekehrt; die stärker besiedelte Galle war einfacher gebaut als die schwächer besiedelte, einfacher im Sinne schwächerer Ablenkung vom Normalen. Gar nicht zu reden von den zahlreichen Fällen, in denen starke Blattlausbesiedelung an bestimmten Pflanzen gar keine Gallen erzeugt, während dieselben Pflanzen auf den Befall durch andere Aphiden mit typischen Gallen reagieren. Solche Betrachtungen verbieten es wohl, in den Aphidiocecidien hauptsächlich Mechanomorphosen erblicken zu wollen.

Einer einwandfreien Beurteilung steht allerdings die Schwierigkeit entgegen, daß die Blattläuse nicht bloß Wunden erzeugen, sondern stets gleichzeitig Speichelsekret absondern und dieses, wie wir wissen, dem vordringenden Borstenbündel vorausfließen lassen, so daß eindeutige Schlüsse tatsächlich bedeutend erschwert sind. In dieser Hinsicht aber scheint mir die Untersuchung von Z i m m e r m a n n (108) [l. c.] interessant. Er untersuchte die Verwundungsstellen durch Blattwanzen und fand, daß das Palisadengewebe wie von einem scharfen Instrument durchstoßen aussieht, so zwar, daß die oberen und unteren Enden der Palisadenzellen noch ihre ursprüngliche Gestalt beibehalten hatten. Nur in wenigen Fällen fand er eine callusartige Zellausfüllung; in den meisten blieben solche Bildungen aus, das tote Zellengerüste blieb erhalten und füllte sich mit Luft. Solche Geweberisse, ohne irgendwelche nachträgliche Veränderungen, fanden sich auch durch Zikaden verursacht. Die genaueren Beobachtungen Z i m m e r m a n n s lassen übrigens schließen, daß die Tiere kein Speichelsekret in die Wunde ergießen, da ihm ein solches sicherlich nicht entgangen wäre, eine Annahme, die sich durch die eigenartige Saugmethode (wir kommen noch darauf zurück) bestätigt. Fehlte hier also der Speichel, so war, mit Rücksicht auf die bedeutende Größe der Borsten, eine außerordentlich kräftige Verwundung eingetreten und doch eine Gallbildung ausgeblieben. Die sporadischen Callusbildungen lassen sich mit den Gallen nicht direkt vergleichen, weil hier die beschädigten Zellen, dort aber stets oder doch vor allem unbeschädigtes Gewebe in einiger Entfernung von der Verwundungsstelle ein abnormes Wachstum eingegangen war. Eine Erschwerung einer einwandfreien Beurteilung bedeutet allerdings der Umstand, daß die untersuchten Blätter anscheinend schon erwachsen waren und mithin jenes Stadium schon überschritten hatten, in dem Gallenbildung normalerweise vorkommt.

Mag also immerhin der Wundreiz bei der Gallbildung mitsprechen, so kommt ihm zweifellos eine ausschlaggebende Bedeutung nicht zu, namentlich ist es nicht möglich, aus ihm heraus die Art der Gallbildung und namentlich das Spezifische jeder einzelnen Galle an einem und demselben Wirtsorgan zu erklären.

Das Speichelsekret, dessen Unentbehrlichkeit für das Saugen der Blattläuse ich nachgewiesen hatte, hat aber, wie ich das für die Blattläuse auf *Evonymus* und *Sambucus* habe zeigen können, noch eine weitere Eigenschaft, nämlich die, giftig zu sein. An den beiden Pflanzen habe ich gesehen [vgl. F. Zweigelt (112) [l. c.] Tafel I, Fig. 4, 8, 12], daß an der dem Stiche unmittelbar zunächst liegenden Zellwand Plasma sich konzentriert und auch der Kern sich zumeist einfindet, auf einen Reiz hin, für

den es zunächst gleichgültig ist, ob er von der giftigen Beschaffenheit oder anderen Eigenschaften des Speichels oder von der Saugtätigkeit allein schon sich ableitet. Daß aber zugleich vom Speichel eine Giftwirkung ausgeht, zeigt die Veränderung und schließliche Abtötung der anliegenden Zellpartien; Plasma und Kern desorganisieren, die betreffende Zelle stirbt aller Wahrscheinlichkeit nach alsbald ab. Es entsteht nun die Frage, ob wir von einem solchen Gifte selbst, wie Küster will, annehmen dürfen, daß es als solches weiterdiffundiert und sich in der Pflanze verbreitet oder nicht. Da ist es zunächst eigentümlich, daß ich eine solche Desorganisation lebender Zellsubstanz lediglich an den dem Stichkanal unmittelbar anliegenden Zellen gesehen habe, niemals aber in größerer Entfernung. Wenn nun ein solches Gift als solches weitergeleitet würde, müßte man doch vermuten, daß es bei seinem Ausstrahlen wenigstens in den zwei bis drei nächsten Zellschichten als Gift wirksam bliebe, und wenn schon, nicht mit derselben radikalen Zerstörung, so doch mit schwächeren Schädigungserscheinungen, Kernhypertrophie und dgl. dort seinen Ausdruck finden müßte. Die außerordentlich unregelmäßige Stichverteilung in Beziehung zum Gallengewebe macht es überdies unwahrscheinlich, daß ein Gift und nicht vielmehr ein Reiz von Zelle zu Zelle strahlt. Für eine solche Reizleitung und korrespondierende Reizreaktivität mag die lokalisierte Anhäufung der Stärkekörner in nebeneinanderliegenden Zellen ein instruktives Beispiel sein (112) [Fig. 14 auf Taf. I]. Die verschiedene Konzentration eines diffusiblen Giftes in verschiedenen Abständen von der Saugstelle würde eine konzentrische Anordnung verschiedener Gewebetypen, oder doch verschiedener Grade pathologischer Veränderungen erwarten lassen, wovon ich jedoch nirgends auch nur eine Andeutung gefunden habe. So sind die Kernhypertrophien der *Fraxinus*-galle durch das ganze Gewebe hindurch gleichmäßig zu finden, ebenso zeigt der anatomische Bau keine besonderen Abstufungen und Abweichungen, die auf Reaktion auf verschiedene Grade der Giftkonzentration schließen lassen könnten. Die Kernhypertrophie fordert allerdings zu einem Vergleiche mit den Kappenbildungen heraus. Der Weg der Umgestaltung der Zellkerne in den Kappen ist stets: Kernhypertrophie, Verschwinden des Nucleolus und schließlich Desorganisation. Und dieses erste Stadium war bei *Artemisia* als leise Andeutung einer Kappenbildung gegeben. Allerdings gestattet der Umstand, daß bei *Artemisia* diese Kernhypertrophie auf die Stichkanalumgebung beschränkt war, bei *Fraxinus* aber sich auf die ganze Galle verbreitet, keinen direkten Vergleich. Die *Prunus*-galle müßte, wenn verschiedene Giftkonzentration die Aktivierung bestimmter Bewegungsgewebe bedeuten sollte, eine außerordentlich regelmäßige Verteilung der Stiche zeigen, eine Forderung, die in der Natur nicht realisiert ist. Es scheint mir daher naheliegend, an eine Reizleitung zu denken und diese Gallenreize sich ziemlich gleichmäßig im weiten Umfange um die Einstichstelle ausbreiten zu lassen. In dieser Hinsicht möchte ich mich Magnus anschließen, der Küsters Behauptung, das Gallengift sei leicht diffusibel, skeptisch gegenübersteht.

Ich habe oben von einer spezifischen Giftwirkung gesprochen, darf nun aber nicht verschweigen, daß ein solches Gift sich gerade an Pflanzen (allerdings Stengeln) hat nachweisen lassen, die keine Gallen bilden, während derartige pathologisch zytologische Veränderungen, die ein sicherer Beweis für Giftwirkungen, mithin für das Vorhandensein eines Giftstoffes, wären, an den den Stichen unmittelbar anliegenden Zellen mir gerade an Pflanzen,

an denen ich die Gallen studierte, fast gar nicht vorgekommen sind. Nur an der *Prunus*-galle sind Kappen, ähnlich wie bei *Evonymus*, aufgetreten und an der Aphidengalle auf *Lonicera* fanden sich lokale Zellulosewandverdickungen, ähnlich, wie sie von mir für *Rosa* beschrieben wurden. Die anderen Gallen aber ließen, trotz eines bedeutenden Grades von Vergallung, keine Giftwirkungen erkennen; ein solches Gift ist also für diese noch nicht nachgewiesen und vielleicht so schwach, daß es keine direkten destruktiven Wirkungen hervorruft, wofern die Gifte, deren Reizwirkung wir uns als Gallbildung vorstellen, mit jenen chemisch derzeit noch ganz unbekannten Stoffen, die die „Kappen“ erzeugen, identisch sind. Es ist denkbar, daß die Pflanze für eben diesen Stoff als Gift immun ist, daß die jugendlichen Zellen mit solchen direkten Giftwirkungen aufräumen und daß nur Reizwirkungen fortbestehen, die gerade hier sich um so kräftiger zu entfalten vermögen. Zweifellos steht überdies fest, daß durch das Saugen der Blattläuse und den Mehrverbrauch an Kohlehydraten bedeutende Ernährungsstörungen in den Pflanzen auftreten müssen, daß bestimmte Substanzen überwiegen, andere mangeln, wofür die chemischen Analysen von M. Molliard ein recht klares Bild geschaffen haben. Giftwirkungen und Ernährungsstörungen in ihren Beziehungen zum Blatte zu trennen, wie es Küster versucht hatte, möchte ich keineswegs empfehlen. Wir haben gesehen, daß das Auftreten der die Einrollung bedingenden Bewegungsgewebe mit der Vergallung so innig verquickt ist, daß sie ontogenetisch zusammengehören, das eine oder das andere Phänomen kaum denkbar ist, und daß es für mich infolgedessen außerordentlich schwer war, die deskriptive Anatomie der Galle zu erledigen, ohne nicht auch zugleich die Charaktere sekundärphysiologischer Entwicklung, eben die Bewegungsgewebe, zu berühren. Zum „typischen Gewebe“ gehört eben auch schon das Bewegungsgewebe, und wenn auch in den Gallen Giftwirkungen und Ernährungsstörungen zunächst getrennte Kausalbegriffe sind, so können wir sie funktionell doch niemals trennen, ganz abgesehen davon, daß, wie wir gesehen haben, die Ernährungsverhältnisse bevorzugtes Wachstum bestimmter Blattseiten nicht erklären können, in dem Sinne, daß Ort und Intensität der Saugtätigkeit in keinem nachweisbaren Zusammenhang mit der Aktivierung der Bewegungsgewebe stehen.

Daß Blätter häufiger und leichter zu Gallen werden können — ich beziehe mich immer auf Aphidengallen — möchte ich in dem weniger stabilen Gleichgewichte der Gewebe begründet sehen, indem sich dieselben im Vergleiche zu den Stengel- und auch Blattstielgeweben befinden, welch letztere seltener und nur durch kräftige Gallreize, wie wir sie von den Cocciden her kennen, Krümmungen eingehen. Die *Aphis pomi* erzeugt an den jüngsten Vegetationsspitzen und Stengelpartien, obwohl die Zellen dort durchweg embryonalen Charakter zeigen, oder doch ihre Entwicklung noch nicht abgeschlossen haben, gar keine Gallbildungen, an den Blättern dagegen doch schon typische Veränderungen, die wir als Gallen ansprechen mußten. Derselbe Reiz kommt demnach an den Stengeln und Blättern derselben Pflanze verschieden zur Geltung; Stengel, die mächtige Giftwirkungen zeigen, wie *Evonymus* und *Sambucus*, zeigen nicht die Spur einer pathologischen Zellen- und Gewebegestaltung, wofür wir, da wenigstens *Evonymus* durchweg noch jugendliches Gewebe hatte, gewiß ein stabiles Gleichgewicht verantwortlich machen müssen, indem dessen Störung durch Akti-

vierung potentiellen Übergewichtes bei Blättern offenbar viel leichter erreichbar ist als bei Stengeln. Es leuchtet ein, daß ein Zylinder von Geweben schwerer und, wie wir von den Coccidengallen her wissen, ganz anders deformiert werden wird, als ein Organ mit hauptsächlichlicher Flächenentwicklung seiner Gewebe, das, um mich roh auszudrücken, unter geringem Kraftaufwand in dem Sinne deformiert werden kann, daß sich die entsprechenden Nerven der beiden Blattspreitenhälften von oben oder von unten einander nähern, eine Gestaltveränderung, für die es, streng genommen, bei den Stengeln gar kein Analogon gibt. Die Stengel deformationen bestehen in einer Verbiegung der Längsachsen, stehen demnach mit der mechanischen Leistung der Bastzellbänder, des ganzen Bastzylinders, die die Biegungsfestigkeit herstellen sollen, in direktem Widerspruch. Blattdeformationen unserer Art würden wir nur dann annähernd hiermit vergleichen können, wenn die Rollungsachse senkrecht zu den Nerven, vor allem zum Mittelnerv stünde. Die pathologische Rollung stellt aber die Biegungsfestigkeit der mechanischen Leisten in den Nerven gar nicht, oder nur in geringem Ausmaße auf die Probe, insofern, als die lateralen Nerven nicht völlig senkrecht zur Rollungsachse stehen, und so eine Kraftkomponente von jedenfalls nicht bedeutender Größe auch das mechanische System in den Blättern in Mitleidenschaft zieht, vorausgesetzt immer, daß die Blätter zur Zeit der Infektion mechanisch entsprechend ausgerüstet waren. Ein dem Bewegungsgewebe der Blätter unmittelbar vergleichbares Gewebe der Stengel gibt es nicht, die beiderlei Deformationen sind etwas wesentlich Verschiedenes.

Wir müssen annehmen, daß zur Aufnahme eines Gallreizes immerhin eine gewisse Disposition herrscht [innere Disposition, Herbst], in dem Sinne, daß Entwicklungs- und Gestaltungsmöglichkeiten, die normalerweise latent bleiben würden, durch den Übergang des Gewebes vom meristematischen in den Zustand von Dauergewebe noch nicht der Weg versperrt ist, der Gallreiz also noch nicht vor Hemmnisse gestellt ist, die er nicht zu überwinden vermöchte. Ich möchte dem Gallreiz der Aphiden hauptsächlich den Charakter von Auslösungs-, eventuell auch von Umschaltungsreizen geben und zusprechen, daß die Veränderungen, die in seinem Gefolge an den Pflanzenorganen auftreten, doch in ihnen latent gegeben sein dürften. So bedeuten auch, meiner Meinung nach, die Vergrünungen durch Blattläuse, wie sie von Diels und anderen beschrieben sind, ferner die Caulom-ähnlichen Verbildungen an Blättern, z. B. von Salix, nichts anderes als die Wirkung eines Gallreizes, der die Pflanze einen in der Phylogenie vielleicht begangenen, in der Ontogenie potentiell vorübergehend gegebenen Weg zu beschreiten zwang. Diels blieb uns allerdings die Antwort darauf schuldig, wieso die Veränderungen entstehen, denn der Hinweis auf die Art der Veränderungen erledigt nicht deren ursächlichen Zusammenhang und namentlich die erste Ursache.

Wollte man Magnus in seiner Auffassung von der Wechselwirkung artfremder Zellen folgen, dann müßte man soweit gehen, in den Speichelfäden, die das Blatt durchsetzen, nicht bloß organisierte Substanz, sondern geradezu ein temporäres „Organ“ zu erblicken, ein, wie ich es vergleichsweise einmal getan habe, wahres Haustorium, ein Blattlaushyphensystem, also eine partielle Neuorganisation des Tieres in Anpassung an seine parasitäre Lebensweise, wie solche Beispiele in klassischer Vollendung die Cru-

staceen, Mollusken u. a. zeigen (vgl. hierüber besonders das Büchlein von L. v. Graff (29)).

War es also bisher auch nicht möglich, die direkte Giftwirkung als Ursache für die Vergallung durch Blattläuse nachzuweisen, so ist es doch auch nicht gelungen, das Gegenteil zu beweisen, daß nämlich dem Speichelsekrete keine spezifischen Wirkungen für die Vergallung zukommen sollten. Spezifische Wirkungen anzunehmen, sind wir gezwungen, vorläufig wenigstens, denn die Vergallungen an einem und demselben Objekte durch verschiedene Parasiten sind auch für die Kataplasmen der Aphiden so heterogen, daß wir auch, wenn wir im Gallentiere bloß den auslösenden Reiz erblicken, doch diese Reize als spezifisch verschieden annehmen müssen. Eine solche Wirkungsweise ist natürlich nicht im Sinne einer direkten morphogenen Befähigung des Speichelsekretes, etwa eines Gallvirus, zu denken, daß also dem Sekrete die Fähigkeit zukommen würde, den Pflanzen eine beliebige, von diesen nur passiv entgegengenommene Gestaltungsrichtung vorzuschreiben, sondern lediglich so, daß von den spezifischen Reizen, ähnlich wie Magnus es meint, komplizierte Stoffwechselvorgänge ausgelöst werden, in deren Gefolge sich gestaltliche Änderungen an Zellen und Geweben einstellen. Daß dabei die von uns als aktive Bewegungsgewebe angeführten Blattzonen besonders und differenziert reizempfindlich sind, wissen wir, denn erhöhte Reizaktivität als Leistung der Parasiten dort anzunehmen, liegt nach unseren Betrachtungen nicht der geringste Grund vor, vielmehr nur gesteigerte, in der pflanzlichen Organisation selbst zu suchende, als gegebene Tatsache anzunehmende Reizreaktivität. Alle diese Veränderungen an den Pflanzen sind potenziell gegeben; sie sind möglich, so lange die pathologischen Stoffwechselvorgänge — und auch die Giftwirkungen sind, solange sie nicht die Tötung der Zellen mittelbar oder unmittelbar nach sich ziehen, nichts anderes — im Rahmen der Lebensfähigkeit der Zellen die letzteren umgestalten, verändern, rückdifferenzieren usw. Daß nicht die Anwesenheit eines beliebigen Speichels, sondern eben eine spezifische Wirkung dieses und nur dieses Speichels die Gallbildung veranlassen kann und muß, zeigt der Mangel stärkerer Vergallungen bei *Aphis pomi* und der *Lonicera*, obwohl die Speichelmengen in keinem Verhältnisse stehen zu den geringeren Speichelquantitäten anderer Aphiden auf denselben Wirtspflanzen. Diels möchte ich keineswegs folgen, wenn er die Bedeutung eines solchen Speichels völlig negiert, ja sogar glaubt, daß ein solches Sekret gar nicht abgesondert wird, weil er es eben für überflüssig gehalten hatte, darnach zu suchen.

Die Umgrenzung des Reizfeldes bietet ziemliche Schwierigkeiten bei den Aphiden, namentlich deshalb, weil die Zahl der saugenden Tiere, mithin der primären Aktivitätszentren, oft eine recht große ist, die Reizfelder mithin einander durchkreuzen und, wenn auch nur ein einziges Tier als Erreger in Betracht kommt, es doch seinen Platz ändert, sich sohin quantitativ multipliziert. Ob Courchets (10) [l. c.] Behauptung, daß bei der *Tetraneura ulmigalle* die Stichwirkung lokal bleibt, und „le reste du limbe et les nervures ne subissent aucune hypertrophie“, richtig ist, bedarf jedenfalls weiterer Untersuchungen. Ich sah an Blättern, die ich vorerst konserviert habe und zu einem späteren Zeitpunkte zu untersuchen

<sup>29)</sup> Graff, L. v., Das Schmarotzertum im Tierreich. (Wissenschaft u. Bildung.) Leipzig 1907.

beabsichtige, in der Umgebung der jungen, kugeligen Galle weit ausgedehnte Kräuselungen, die vielleicht auf die Wirkung der *Tetraneura*-Stiche zurückzuführen sein dürften. Auffallend erscheinen im allgemeinen Vergallungen auf große Ausdehnung, in deren Bezirke sich sehr wenige Stiche fanden, so daß wir, namentlich für junge Blätter, das Reizfeld ziemlich groß annehmen müssen. Den Gedanken, daß, weil es durch zahlreiche Stiche und namentlich durch gleichzeitige Stiche mehrerer, nahe beieinander sitzender Tiere zu einer Durchdringung der Reizfelder kommt, eine Potenzierung der Gallbildung kommen würde, möchte ich unbedingt ablehnen, weil wir keine anatomischen Belege hierfür haben, vielmehr die Richtigkeit des Gegenteiles bewiesen werden konnte. Daraus scheint sich mir wiederum die Annahme zu bestätigen, daß nicht Giftstoffe selbst, sondern Reize in der Pflanze weitergeleitet und von den Zellen aufgenommen worden. Bei der kolossalen Kumulierung von Stichen müßte die Giftkonzentration, von der die einzelnen Zellen von mehreren Seiten betroffen werden, so hoch werden, daß längst das für die Gallbildung erforderliche Optimum überschritten und im ganzen Bereiche der Stiche eine solche unterdrückt werden müßte — oder sollten die Tiere als Erreger starker Vergallungen in „Kenntnis“ dieser ihrer Fähigkeit und der Wirksamkeit ihres Speichels eine zu große Nähe von Stichen, mithin eine zu starke Annäherung aneinander instinktiv vermeiden?

Der Umstand, daß solche Wirkungen nur so lange dauern, als die Tiere saugen, läßt eine Komplikation in dem Sinne vermuten, daß das Saugen selbst, die beständige Stoffentnahme und die sie bedingenden enzymatischen Prozesse einen Teil der ursächlichen Reize bildet, so daß der erste Anstoß zur Gallenbildung bereits die Leistung mehrerer Faktoren erfordert, die, einzeln wirkend vielleicht, nicht imstande wären, Gallen zu erzeugen. Diese notwendige Schlußfolgerung läßt dann allerdings Experimente mit einzelnen Stoffen, mit bezüglichen Fermenten wie Antifermenten in ihrer Bedeutung für die kausale Erklärung der Gallenbildung in bedenklichem Lichte erscheinen, weil wir aus dem Gelingen eines solchen Versuches immer noch kein Recht ableiten dürfen, die Gallbildung mit dem experimentellen Ergebnis zu identifizieren und die bekannte Ursache des letzteren auch für erstere als ausschlaggebend zu bezeichnen.

Spezielle Untersuchungen sind für die Psylloden nötig. Wie Löw (61) (62) gefunden hatte, entstehen die Gallen hier nicht erst durch das Saugen der Larven, sondern unmittelbar nach der Eiablage, infolge Anklebens der Eier an das junge Blatt. Je weniger das Blatt zur Zeit der Eiablage entwickelt war, um so auffallender ist später die Verkrüppelung. Die Blattrandrollung ist hier also nicht erst die Folge des Saugens, sondern eines Reizes, der vom Ei, vielleicht ähnlich wie bei den Hymenopterengallen, auf das Blattgewebe ausgeübt wird. Spezielle Untersuchungen erheischen aber auch die Thysanopterengallen, deren Anatomie uns wertvolle Parallelen zu den Aphidiocecidien aufgezeigt hat, und deren biologischen und physiologischen Zusammenhang mit ihren Erzeugern aufzudecken, eine der nächsten Aufgaben sein muß.

## Anhang.

### Gallen sui generis.

**Blattzahngalle auf Prunus.** Obwohl ätiologisch von der gesamten Prunusgalle des zweiten Typus kaum zu trennen, bespreche ich die lokale Vergallung dennoch getrennt, weil sie mit der Roll-



galle direkt nichts zu tun hat, sondern eine linsenförmige Gewebewucherung darstellt, die sich zwischen Blattrand und Blattrandzahn einschaltet und letzteren größtenteils deformiert, und dann, weil die uns geläufige Bildung großer bis Riesenzellen als Komponenten der Bewegungsgewebe nicht wie dort auf eine Blattseite beschränkt ist, sondern die ganze Galle umfaßt; es besteht demnach die ganze Galle ausschließlich aus großen, wasserreichen und plasmaarmen Zellen, für deren größten Teil wir ohne Bedenken den Terminus Riesenzellen annehmen dürfen. Die Galle setzt unmittelbar hinter der Abtrennungszone mit einer oberseits gelegenen, unregelmäßigen konturierten Beule ein, so zwar, daß an ihrem Rande zunächst ober- und unterseits die Riesenzellbildung beginnt und erst gegen die Mitte der Galle zu die beiden Zonen zu einer einheitlichen, großzelligen Gewebemasse verschmelzen. Schließlich spaltet sich die beulige Galle zwischen Rand und

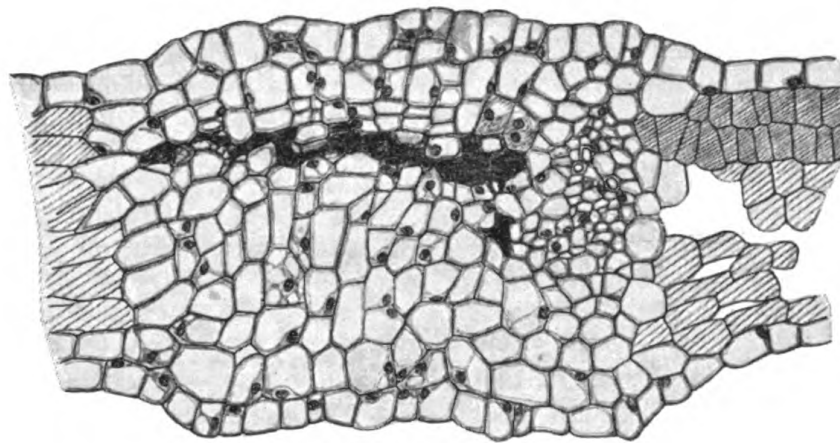


Fig. 31.

Blattzahn in Form einer breiten Vorwucherung, deren pathologisches Gewebe sich auch bis in die Spitze des Blattzahnes verfolgen läßt. Auch an Stellen, die keinen Blattzahn darstellen, kommt es zuweilen zu solchen linsenförmigen Wucherungen aus einheitlich großzelligem Gewebe, die stets am Blattrande das Maximum ihrer Entwicklung aufweisen, der dann im Querschnitte keulenförmig gestaltet ist. Beziehungen zu bestimmten Stichen habe ich nicht finden können; wir dürfen in diesen lokalen Vergallungen wohl nichts anderes als Korrelationserscheinungen erblicken; möglicherweise hat die Nähe des Blattrandes die Reizaktivität erhöht und spielt der Blattrand eine ähnliche Rolle, wie die im II. Hauptkapitel behandelte Hypodermis. Daß am Blattrande die die Entwicklung bedingenden Kraftkomponenten eine andere Wirkung hervorrufen können, scheint uns naheliegend.

**Linsengalle auf *Pirus malus*.** Fig. 31 zeigt eine eigentümliche Veränderung im Blattbau des Apfelblattes an einer Galle der *Aphis pomi*. Diese Vergallung lokaler Natur ist um so auffallender, als, wie wir wissen, diese Blattlaus nur geringe anatomische Veränderungen hervorruft. Das pathologische Gewebe setzt sich von der Unterseite zur Oberseite gleichmäßig fort und ruft eine Verdickung des Blattes um etwa  $\frac{1}{3}$  der normalen Spreitendicke hervor. Das pathologische Gewebe dehnt sich in kurzer Tiefenerstreckung zwischen einem größeren und kleineren Gefäßbündel aus und zeichnet sich durch starke Safranophilie, speziell an den in der Zeich-

nung dunkel gehaltenen Stellen, aus, was auf die Anwesenheit von Gerbstoff schließen läßt. Eine Entscheidung darüber, ob dabei auch Speichelsekret wäre, war mir trotz Anwendung stärkster Linsensysteme nicht möglich. Eine normale Bündelanastomose zwischen den beiden Gefäßbündeln ist in den stark gefärbten Zellen kaum zu vermuten. Im Gegensatz zu der übrigen physiologisch-anatomisch bereits differenzierten Blattspreite, beteiligen sich am Aufbau dieser Galle lauter gleichartige Elemente, deren Zellen stellenweise plasmareich sind und sich in lebhaften Teilungsstadien befanden, wofür einmal der Verlauf bestimmter Zellwände und dann die Lage der Zellkerne vieler Tochterzellen an der gemeinsamen jüngsten Wand spricht. Besonders hinweisen möchte ich darauf, daß auch die Epidermiszellen der Blattoberseite an diesen Teilungen mit periklinen Wänden teilnehmen, was den pathologischen Charakter des ganzen Gewebes aufs deutlichste zeigt. Bezeichnend ist endlich der Mangel an Chlorophyll, im Gegensatz zu den übrigen Blattpartien. Die Aetiologie dieser von mir nur ein einziges Mal beobachteten Gallbildung ist mir völlig rätselhaft, da ich keine Stiche gefunden habe, ja nicht einmal eine Verwundung habe feststellen können, und andererseits die Möglichkeit, daß hierfür ebenfalls die *Aphis pomi* verantwortlich wäre, ausgeschlossen ist, weil wir wissen, daß auch die jüngsten Gewebe durch diese Blattlaus zu keinen so weitgehenden Vergallungen angeregt werden können. Ich beschränke mich auf die Beschreibung dieser eigentümlichen Gallbildung, deren Natur aufzuhellen, vielleicht einer späteren Zeit vorbehalten bleibt.

#### Zur Biologie.

Biologisch von Interesse sind einige anatomische Veränderungen, die ich im beschriebenen Teile mit einer gewissen Absicht übergangen habe. Es handelt sich um eine ziemlich enge Verbindung der Blattränder, oder anderer Stellen der Blattspreite, welche durch die eigenartige Rollung einander bis zur Berührung nahegebracht worden sind. Der biologische Effekt ist dabei eine mehr oder weniger vollständige Kapsel- oder Taschenbildung, die dadurch stellenweise vollkommen von der Außenwelt abgeschlossen erscheint und — teleologisch — den Schutz der Inwohner fördern könnte. Auch Kerner (44) [l. c.] ist diese Erscheinung nicht entgangen, doch ist er überzeugt, daß eine Verwachsung jener Stellen, wo die Gewebe infolge der Blattkrümmung in Berührung kommen, nicht stattfindet, „es ist daher der Hohlraum, in welchem die Gallen erzeugenden Tiere wohnen, mit der Außenwelt immer durch einen offen bleibenden Spalt verbunden“.

Eine viel innigere Verbindung ist allerdings Kessler (45) [l. c.] für die *Pemphigus affinis* galle geneigt, anzunehmen: „Nach den Rändern der beiden Blatthälften hin wird dieser Hohlraum immer enger, bis die beiden Ränder sich aneinander legen und so unter Mitwirkung eines Klebestoffes, welcher aus dem Gewebe schwitzt, einen dichten Verschuß der ganzen Blatttasche bilden. Diesen Klebestoff nimmt man wahr, wenn man die beiden Blatthälften vom Rande aus mit den Fingern auseinander zieht.“ Später allerdings nimmt er auf diesen Klebestoff keine Rücksicht mehr, „wenn die ersten geflügelten Tiere in der Galle sich zeigen, wird der Schluß der Blattränder locker, dieselben trennen sich wieder allmählich ihrer ganzen Länge nach“. Eine Untersuchung eines solchen Klebestoffes liegt nicht vor; es ist leicht denkbar, daß Kessler ein Irrtum unterlaufen

ist, indem sich dort entweder zufällig „Honigtau“ der Läuse angesammelt habe oder die turgeszenten Zellen beim Auseinanderziehen verletzt worden sein und einen Teil ihres Zellsaftes abgegeben haben möchten.

Interessant aber ist, daß wir es hier bei den Blattlausgallen, wenn auch nicht so vollkommen, wie es Küster (54) [l. c. p. 209] für die Galle der *Diplosis fraxini* abbildet, immerhin mit einer anatomischen Veränderung der in Betracht kommenden Epidermiszellen zu tun haben, welche gegenseitig einen engen Verschuß zeigen, wobei einer Gewebewucherung der einen Seite eine Depression der anderen gegenübersteht. Auseinander zu halten sind hier zwei Fälle: einmal der an der *Fraxinus*galle beobachtete (Fig. 29 linke Rolle), indem der Blattrand infolge der Blattrollung mit einer gewissen Kraft gegen eine bestimmte Partie der Blattlamina gedrückt wurde, und dann eine eigentümliche Verengung im Hohlraume der *Prunus*galle des I. Typus (Fig. 11 a), wobei es zu einer Abschnürung des Hohlraumes, wenigstens eine kurze Strecke weit, durch eine leistenförmige Berührung der beiden Blattlamina gekommen war, so daß vorübergehend die einheitliche Gallenhöhle in zwei Kammern oder Gänge zerlegt wurde. Der aus der pathologischen Entwicklungsrichtung gegebene mechanische Druck, den auch Küster (51) [l. c.] für die Verschmelzung von Gallengewebe verantwortlich macht, und der von den durch die Vergallung entstandenen Gewebeleisten aufeinander ausgeübt wird, hat bei der *Fraxinus*galle zur Folge, daß die Epidermiszellen der gedrückten Blattstelle in ihrer Entwicklung gehemmt werden, niedriger bleiben, sich aber unmittelbar neben der Druckzone, wahrscheinlich infolge eines mechanischen Reizes, stark vorwölben, so daß der abgerundete Blattrand in einer schwachen Rinne, in einem seichten Falz läuft, dessen Vorhandensein die fixe Lage der Rollung gewissermaßen garantiert, jedes Ausgleiten verhindert und einen innigen Gewebeverschuß ohne Gewebeverwachsung gestattet.

Noch weiter gehen die betreffenden Veränderungen bei der *Prunus*galle. Ob die durch die Krümmung herbeigeführte Nähe der gegenüberliegenden Spreite oder andere Momente lokales Wachstum angeregt haben, jedenfalls ist es interessant, daß eine bedeutende Gewebewucherung vorliegt. Namentlich sind hiervon die Hypodermiszellen betroffen, die zugleich die Epidermis bedeutend in der Richtung zur naheliegenden anderen Spreitenhälfte vorwölben, bis es zu einer Berührung kommt und dort ein ähnlicher Druck ausgeübt wird, wie bei der *Fraxinus*galle. Das Ergebnis ist ebenfalls eine teilweise Entwicklungshemmung der gedrückten Zellen und schließliche Rinnenbildung. In beiden Fällen ist also das Prinzip dasselbe, nur der Weg ein anderer, und es ist im zweiten Falle die Ursache dieser Verbindung keineswegs aufgeklärt, weil wir aus der pathologischen Blattkrümmung keineswegs etwa, wie bei *Fraxinus*, die Berührung und den Druck auf das gegenüberliegende Gewebe erklären können, sondern eine von der Krümmung unabhängige, lokale, dorsale Hypodermiswucherung vorliegt, die schließlich bis zur Berührung führt. Wir könnten in ihr einen kleinen dorsalen Aktivitätsherd von unbedeutenden Längenerstreckungen erblicken, der infolge seines Vorhandenseins die Spreite marginalwärts wieder auseinandergedrängt hat, und dessen Kontakt mit dem gegenüberliegenden Spreitenteil wohl der Hauptsache nach ein Effekt der ventralen Aktivitätszone des Mittelnerven, mithin ein passives Phänomen genannt werden darf, was die beiden Fälle wieder einander näher brächte. Der Hinweis auf irgendein teleologisches Prinzip entbindet uns jedenfalls, wie Küster (53) [p. 522,

l. c.] ausdrücklich betont, keineswegs der Verpflichtung, nach der tatsächlichen Ursache dieser Verbildung zu suchen, da eine kausale Erklärung niemals in einer finalen gegeben sein kann.

### Nachträge zum Saugphänomen.

In Ergänzung zu meiner Mitteilung über die Kappenbildung bei der *Prunus* gallie sei erwähnt, daß sich diese besonders an Einsenkstellen gefunden haben. Die meisten Stiche der Tiere in bereits vergalltes Gewebe waren von spärlichen Sekretausscheidungen begleitet und nahmen auf die Lage der Zellwände, die zu Spaltungen ihrer Zartheit zufolge wenig geeignet sind, kaum Rücksicht. Stiche der Blattoberseite drangen zuweilen bis nahe an die Ventralseite vor, bis in die dritte und zweite Zellage.

Auf die eigentümliche Größe der Stiche\*) in der *Lonicera* gallie durch die unbekannte Aphide ist schon in der Ätiologie hingewiesen worden. Die interzelluläre Aussaugung hat sich überall klar nachweisen lassen. Für

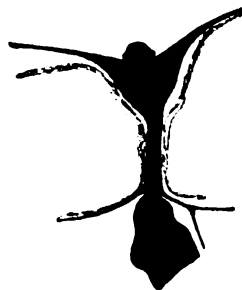


Fig. 32.

die durch die Stiche am meisten bedrohten und von der Pflanze durch Celluloseanlagerungen verstärkten Zellwände verweise ich auf Fig. 32. Auffallend und im Gegensatz zu *Rosa*, für welche ich ähnliche Zellreaktionen auf Blattlausbefall beschrieben habe (112) [l. c.], ist aber, daß hier solche Wandverdickungen als Reaktion der beiden, dem Stichkanal unmittelbar anliegenden Zellen nur an den Epidermiszellen zu beobachten waren, während dort diese niemals, sondern nur die tieferliegenden Schichten Zellulosewandverdickungen gezeigt hatten. Die Wandverdickungen sind hier entweder auf die ganze Radialwand ausgedehnt, oder beschränken sich linsenförmig auf die Einstichstelle.

Die Ursachen für die Verschiedenheiten in dieser Reaktion bei *Lonicera* und *Rosa* liegen offenbar in spezifischen Organisationen der beiden Pflanzen, denn z. B. so sehr differierende Einstichgeschwindigkeiten anzunehmen, haben wir wohl kein Recht.

Die von Blattläusen (*Aphis pomi*) besetzten Stengel und Vegetationsspitzen des Apfelbaumes erheischen unser Interesse wegen der innigen Beziehung zwischen den saugenden Tieren und den mechanischen Zellen, die hier noch sehr jung und zart und außerordentlich schwach collenchymatisch verdickt sind. Die Tiere stechen mit Vorliebe in diese jungen Elemente, saugen sie aus, und es ist interessant, daß sie diesen Zellen nicht selten vor dem Leptom den Vorzug geben. Man findet häufig Stiche, die das Collenchym interzellulär durchsetzen, bis zum Leptom vordringen, jedoch nicht in dieses weiter vordringen, sondern an der Grenze zwischen ihm und den mechanischen Zellen annähernd parallel zur Epidermis in den letzteren weiterstechen und saugen. Wir werden mit der Annahme nicht fehlgehen, daß diese Zellen, deren Wände im Stadium energischer Verdickung sind, reich an plastischen Baustoffen, vor allem Kohlehydraten sind, die auf die Tiere eine besondere Anziehung ausüben werden und das Interesse der Tiere für diese jungen mechanischen Elemente erklären. Die interzelluläre Aussaugung läßt sich in allen Geweben deutlich verfolgen. Das

\*) Die Abbildung der Länge des Stiches durch die Chermes in der Chermesgalle (E. R. Bourdon (4) [Influence of Chermes on Larch Canker. The Gard. Chronicle. Vol. 42. 1907. p. 353]) scheint die tatsächlichen Verhältnisse zu übertreiben.

Periderm wird teils inter-, teils intrazellulär durchsetzt und dürfte kaum von den Tieren stärker in Anspruch genommen werden.

In diesem Zusammenhang muß ich noch zu einigen, von mir seinerzeit übersehenen Äußerungen verschiedener Autoren Stellung nehmen, da diese im Widerspruch zu unserer heutigen Auffassung vom Saugprozeß stehen, und wenn sie unwiderprochen bleiben, zu Irrtümern und Verwirrungen Anlaß geben müßten. *Küstenmacher* (49) [l. c.] bespricht gelegentlich den Gerbstoffgehalt der Aphidengallen und erwähnt dessen Verteilung und Reichtum in der zweiten und dritten Reihe von der unteren „Nährepidermis“. „Die innere Epidermis ist sehr fein porös und entläßt die Zuckerlösung für die Blattläuse“; und p. 179: „daher ist die Zuckerlösung der Nahrung z. B. der Aphidengallen immer noch etwas gerbstoffhaltig“. Auch *Remisch* (79) scheint ein ähnlicher Gedanke vorzuschweben, wenn er sagt: „Nur nebenbei sei erwähnt, daß die Saftausschwitzung nicht durch die Blattläuse, sondern durch Temperaturverhältnisse verursacht wird und die Blattläuse sich meist erst dann infolge der reichlich vorhandenen Nahrung massenhaft vermehren.“ Wie wir wissen und wie es schon größtenteils durch *Büsgen* klargestellt worden war, stehen solche Auffassungen in lebhaftem Widerspruche mit den tatsächlichen Verhältnissen und sind nur möglich, wenn man vom Saugphänomen keine Ahnung hat. *Büsgen's* Arbeit, die schon vor 24 Jahren erschienen ist, scheint viel zu wenig bekannt zu sein. Die „beobachtete“ Porosität der Epidermis ist zweifellos ein *Lapsus oculorum* gewesen, und von einer Nährepidermis zu sprechen, hat für Aphiden nicht den geringsten Sinn, da diese Tiere alles eher als die Epidermis, auf der sie sitzen, beanspruchen. Ebenso müßte man den Aphiden leckende Mundwerkzeuge zusprechen, sollten sie, wie *Remisch* und *Küstenmacher* glauben, erst auf die Ausschwitzung der Nahrung warten und diese dann auftrinken. Wahrscheinlich ginge es ihnen hierbei ähnlich wie dem Störche, der beim Fuchse zu Gaste, aus einem flachen Teller hätte trinken sollen.

Inwieweit die von *C. Howard* (36) [l. c.] beschriebene Tätigkeit der Larven von Tingiden (Buckelwanzen) den Tatsachen entspricht, entzieht sich meiner Beurteilung. Daß „la larve du *Copium clavicornis* enfonce son appareil de succion“, entspricht der allgemeinen Organisation dieser Tiere. Wenn nun *C. Howard* weiter erklärt: „les cellules situées sous l'épiderme interne sont collenchymateuses, énormément agrandies et à gros noyaux, leur abondante protoplasme constitue autour de la cavité larvaire une couche nutritive bien développée, située à proximité du parasite et dans laquelle il puise sa nourriture“; so möchte ich wohl weitere Untersuchungen über das Saugphänomen dieser Hemipteren wünschen, da wohl ohne gründliche Kenntnis desselben und gerade mit Rücksicht auf das ganz andere Verhalten der Aphiden von vorneherein nicht eine „couche nutritive“ angenommen werden darf. Diese meine Bedenken sind um so gewichtiger, als *C. Howard* an keiner Stelle über den Saugvorgang bei den Tingidenlarven spricht.

Ein außerordentlich wertvoller, nachträglicher Beweis für die Richtigkeit meiner Auffassung vom Saugvorgang bei den Blattläusen sind die Untersuchungen von *Zimmermann* (108) [l. c.] über einige durch Wanzen, Zikaden und so weiter erzeugten Blattflecken, eine Arbeit, die mir leider

<sup>79)</sup> *Remisch*, F., Die Hopfenblattlaus „*Aphis humuli* Schr.“ (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 7. 1911. p. 240, 282.)

erst jetzt in die Hand gekommen war. P. 104 beschreibt er zunächst den Saugvorgang bei *Pentatomus plebejus* auf *Fraxinus edonii*: „... konnte ich beobachten, daß sie die Blätter stets von der Unterseite her anbohren und daß sie ihren Rüssel fortwährend etwas vorstoßen und zurückziehen, während gleichzeitig die fast nur von der Oberseite her sichtbaren Flecken sich immer mehr ausdehnen. Die eigentümliche Gestalt dieser Flecken ist offenbar dadurch zu erklären, daß das Insekt die in das Blatt eing Bohrten Stechborsten parallel der Blattfläche im Palisadenparenchym ausstreckt, dann etwas zurückzieht und darauf in einer von der ersten eingeschlagenen etwas abweichenden Richtung wieder ausstreckt und dieses abwechselnde Zurückziehen und Wiederausstrecken so lange fortsetzt, bis der Rüssel im Kreise herumgeführt ist.“ Für wanzenbefallene Orchideenblätter bezeichnet er p. 107 das Aussaugen bestimmter Zellen der Blätter leicht kenntlich dadurch, „daß sie keine Chlorophyllkörper oder Zellkerne enthalten. Die meisten dieser Zellen sind mit Luft erfüllt“. Tingiden auf *Morinda citrifolia* saugen gewisse Zellkomplexe aus, die sich dann mit Luft erfüllen, und zwar wird hauptsächlich nur das Palisadenparenchym ausgesaugt. Zimmermann fand stets regelmäßig begrenzte Einstichöffnungen, die zuweilen „von einer schleimartigen Substanz umgeben waren“ und ca. 30  $\mu$  Durchmesser hatten. Nur bei einigen anderen Orchideen hatte er vergeblich nach solchen Einstichöffnungen gesucht, und es scheint ihm wahrscheinlich, daß die Insekten hier die Spaltöffnungen als Zugangspforten zum Mesophyll benutzen.“ Schließlich glaubt Zimmermann, daß die an den Mandibeln auftretenden, ziemlich starken, sägeartigen Zähne beim Zerreißen der Zellen eine wichtige Rolle spielen könnten.

Mit Ausnahme einer schleimartigen Substanz, deren Natur noch nicht geklärt ist, an der Außenfläche der Einstichstellen erwähnt Zimmermann nirgends ein Speichelsekret in dem Pflanzengewebe. Was ist die Folge dieses Mangels? Wenn meine Auffassungen über die Aphiden richtig sind, muß Tieren, die ohne Speichelabsonderung in die Stichkanäle saugen, die Möglichkeit fehlen, kontinuierlich zu saugen und einen ganzen Komplex von Zellen von einem Stichkanal aus gleichzeitig in Anspruch zu nehmen. Und tatsächlich sind diese Wanzen gezwungen, Zelle für Zelle auszusaugen und mit dem Borstenbündel so lange im Kreise herumzufahren, bis alle von dieser Einstichstelle direkt erreichbaren Zellen erschöpft sind. Nirgends zeigt sich Plasmolyse, nur die betreffenden Zellen werden gänzlich erschöpft und füllen sich beim Verlassen allmählich mit Luft. Das Saugen ist hier also außerordentlich primitiv, Arbeit und Erfolg stehen in keinem Verhältnis zueinander. Die einzige hier maßgebende Saugmethode ist die intrazelluläre; die Zellen müssen angestochen, bzw. durchstochen werden, um ausgesaugt werden zu können. Diese Methode ist offenbar ursprünglicher, primitiver; sie ist die unmittelbare Folge mangelnder Organisation im Sinne der Anpassung an die parasitische Lebensweise. Die interzelluläre Saugmethode dagegen ist ein Erfolg veränderter Organisation, ein Effekt, der nur durch spezielle Anpassung erzielt werden konnte, also eine abgeleitete Methode, im dauernden Parasitismus begründet. Die Auffassung Zimmermanns über die Bedeutung der Stomata für die Einstiche ist für so große und starke Tiere immerhin möglich und denkbar, da sie auch im Innern der Pflanze zur Überwindung des Turgors der Mithlife des Speichelsekretes entbehren konnten. Die mechanische Rolle an den Mandibeln vorhandener

Zähne, die das Eindringen offenbar erleichtern, leitet unfehlbar zu den blut-saugenden Rhynchoten hinüber, für welche, wie verschiedene Autoren angeben, solche Zähne eine unverkennbare Bedeutung besitzen. (Vgl. die bezügl. Literatur bei F. Z w e i g e l t (112) [l. c.]

Der Vergleich der Saugtätigkeit dieser Wanzen mit meinen Blattläusen läßt nun aber die Rolle der Speicheldrüsen und des Speichelsekretes in besonders grellem Lichte erscheinen. Wir werden nicht fehlgehen mit der Behauptung, daß der Speichel den kleinen Aphiden nicht nur die den größeren Rhynchoten von der Natur aus zukommende Kraft zur Überwindung von Widerständen ersetzt, sondern sie sogar befähigt, trotz ihrer Zartheit und Kleinheit, bei ökonomischem Speichelverbrauch ihre Wirte viel energischer zu treffen, als dies den großen Wanzen möglich war. Der offenbar ziemlich alte Parasitismus der Blattläuse, in dessen Gefolge manche funktionell minder bedeutenden Organe eine Rückbildung erfahren haben, hat den Tieren im Speichelsekret geradezu ein neues Organ geschaffen, ein im vollen Sinne des Wortes zu Recht bestehendes, mechanische Hindernisse überwindendes und das Saugen einleitendes und zur höchsten Vollkommenheit führendes Haustorium, dessen die Wanzen völlig ermangeln, die daher gezwungen sind, sich in höchst primitiver Weise die pflanzliche Nahrung zugänglich zu machen. Die für so viele Parasiten bekannte Umgestaltung der Organe in Anpassung an die parasitische Lebensweise findet demnach schon bei den Blattläusen volle Anwendung, deren Speichelsekretion im Dienste weiterer Funktionen, die ich (112) ausführlich beschrieben habe, eine progressive Entwicklung erfahren haben. (Vergl. auch meine vorläufige Mitteilung) (110).

#### Zur Terminologie.

Vor etwa 20 Jahren hatte es A. B. F r a n k (23) [l. c.] für wesentlich gehalten, daß man erst, wenn Hypertrophie eingetreten ist, von einem Übergang zur Gallbildung sprechen könne. 1900 betonte K ü s t e r (52) [l. c.], daß bei der Definition des Begriffes Galle nicht allein ätiologische Gesichtspunkte beobachtet werden dürfen, sondern, daß auch dem teleologischen sein Recht bleiben müsse: „Gallen sind demnach nach meiner Auffassung von fremden Organismen angeregte Mechano- und Chemomorphosen, welche als zweckmäßig für den fremden Organismus, aber gleichgültig oder unzweckmäßig für den gallentragenden Organismus sich erkennen lassen.“ Die Forderung nach „Zweckmäßigkeit“ bestimmt ihn allerdings zu einer weiteren Erklärung, daß eine Galle, welche nur destruktiven Reizen ihre Entstehung verdankt, sich nicht der gegebenen Definition einordnen läßt, „denn von der Galle fordern wir Zweckmäßigkeit für den sie erzeugenden fremden Organismus und durch Störungen, destruktive Reize allein könnte höchstens „zufällig“ ein Bildungsergebnis erzielt werden, das sich der Eigenart des betreffenden Parasiten als entsprechend und als zweckmäßig für diesen erwiese. Zur Annahme von „Zufälligkeiten“ dieser Art können wir uns aber nicht entschließen. 1902 fand T h o m a s (101) [l. c.] bei der Untersuchung von Blattgrübchen sowohl Deformationen, die durch Hypertrophie entstanden waren, als auch solche, die hypertrophielos waren, und trennte letztere als Pseudocecidien ab. Was speziell die teleologische Seite der Frage anbelangt, so hält T h o m a s bei

<sup>110)</sup> Z w e i g e l t, F., Das Saugphänomen der Blattläuse. (Tätigkeitsber. d. bot. Versuchslabor. u. Laborat. f. Pflanzenkrankh. Klosterneuburg 1912/13. p. 16.)



Feststellung des Begriffes *Cecidium* im weiteren Sinne die Vermeidung der Hereinziehung unserer Auffassung von Nutzen und Schaden für die Pflanze unbedingt für wünschenswert, welcher Ansicht sich neuerdings auch K ü s t e r anschließt. Auch im folgenden Jahre bleibt K ü s t e r (50) [l. c.] dabei, daß die Gallen sämtlich Bildungsabweichungen sind, „die der Entwicklung der Parasiten Vorschub leisten und insofern „zweckmäßig“ für diese sind.“

A. Y. Grevillius (26) [l. c.] suchte 1909 der Tatsache gerecht zu werden, daß der Unterscheidung von Cecidien und Pseudocecidien, wie Thomas wollte, praktisch bedeutende Schwierigkeiten entgegenstehen. Infolge dessen schlägt er vor, diese Differenzierung fallen zu lassen und nicht natürliche Gruppen und Entwicklungsreihen zu zerreißen, was am besten durch die Zusammenfassung bestimmter Gallen nach ihren Erregern in „Dipterocecidien“, „Hemipterocecidien“ usw. möglich wäre, eine Einteilung, die zu benützen, tatsächlich von Wert ist, weil wir von so vielen Fällen die Entwicklung und den ferneren Bau überhaupt noch gar nicht kennen, und der äußere Anblick absolut keinen Aufschluß darüber geben kann, ob ein echtes *Cecidium* oder ein *Pseudocecidium* vorliegt. „Da also die hypertrophischen Bildungen in diesen Fällen wohl gewissermaßen als eine höher differenzierte, die hypertrophielosen Deformationen als niedrigere Stufe einer und derselben natürlichen Reihe betrachtet werden können, so scheint es mir am natürlichsten zu sein, solche Bildungen im Zusammenhang miteinander zu behandeln und nicht so viel Wert auf die Trennung der hypertrophischen von den hypertrophielosen Bildungen zu legen, umsomehr, als die echten Cecidien oft nicht ausschließlich durch Hypertrophie, sondern gleichzeitig auch durch Hypoplasie zustande kommen“ — und, wie ich hinzufügen möchte, die Pseudocecidien, wohin man dieser Begriffsfassung zufolge auch meine *Aphis pomi* und *Prociphilus xylosteigalle* stellen müßte, nicht ausschließlich Entwicklungshemmungen, sondern auch lokale Hypertrophie, ja sogar auch Hyperplasie zu erkennen geben und somit den Begriff Pseudocecidien illusorisch machen.

Es hat überdies meines Erachtens keinen Sinn, starre Formeln und Definitionen zu bringen, in die unmöglich alle von der Natur gebotenen Objekte hineinpassen können und deren Betrachtung uns schließlich zwingt, solche Formeln, falls sie zu einem unantastbaren Erbe geworden sein sollten, einfach zu umgehen. Besonders klar wird dieses Dilemma in den Untersuchungen von H. Karny und J. Docters van Leeuwen-Rijnvaan (42) [l. c.], welche für die Thysanopterengallen gefunden hatten, daß man bei konsequenter Einhaltung der Definition an denselben Pflanzen durch dieselben Parasiten erzeugte Gallen an älteren Blättern zu den Pseudocecidien, an jüngeren, noch lebhafter reaktiven Blättern zu den echten Gallen zählen müßte, eine Unterscheidung, die gänzlich unhaltbar ist, weil es überhaupt keine Grenze mehr gibt. Auch die Blattlausgallen stellen, wie wir bereits wissen, zahlreiche Beispiele für die Kumulierung echter und unechter Gallen auf denselben Wirten und denselben Erregern.

K ü s t e r s Gallendefinition findet sich in seinem Gallenwerke dahin modifiziert, daß als Gallen alle diejenigen, durch einen fremden Organismus veranlaßten Bildungsabweichungen zu gelten haben, welche eine Wachstumsreaktion der Pflanze auf die von dem fremden Organismus ausgehenden Reize darstellen, und zu welchen der fremde Organismus in irgendwelchen ernährungsphysiologischen Beziehungen steht. Da diese ernährungsphysiolo-



gischen Beziehungen, beispielsweise bei den Blattflecken von Zimmermann, nicht gegeben scheinen, rechnet Küster letztere auch nicht zu den Gallen. Immerhin bedeutet diese Definition früheren gegenüber einen Fortschritt, weil der Begriff „zweckmäßig“ fehlt. Küster hatte schon damals erkannt, daß es, namentlich bei einfacheren, nieder organisierten Gallen außerordentlich schwer ist, zu sagen, ob z. B. bei den Pilzgallen von den angehäuften Kohlehydraten der Parasit den größeren Nutzen zieht, oder die Wirtspflanze, die eine für sich zweckmäßige Reaktion darin zu erkennen gibt, daß sie den infizierten, geschädigten Gewebeteilen eine erhöhte Nährstoffzufuhr angedeihen läßt.

Ein solcher Begriff „zweckmäßig“ ist von „bewußt zweckmäßig“ oft schon recht schwer zu unterscheiden, namentlich, wenn wir uns erinnern, daß Küster Zweckmäßigkeiten, die zufällig entstehen, nicht als Gallen anzuerkennen vermag. Es ist indessen festzuhalten, daß die Blattläuse speziell nicht saugen und nicht Speichel absondern, damit eine Galle entsteht, sondern letztere entsteht, weil die Blattläuse saugen, weil durch das Saugen und den Speichelerguß diejenigen Reize aktiv werden, auf die die Pflanze mit bestimmten anatomischen Veränderungen antworten muß. Und wenn oben Küster destruktiven Reizen, auch wenn sie zu Gallbildungen führen, die Bedeutung von Gallreizen, mithin ihren Ergebnissen den Begriff „Galle“ abspricht, weil solche Gallen nur „zufällig“ entstehen könnten, so muß die Meinung aufkommen, daß alle anderen Gallen absichtlich gebildet werden, mithin das Gallentier, ehe es an seine „Arbeit“ geht, bereits wußte, was es will.

Was nun die ernährungsphysiologischen Beziehungen zwischen Gallen und Gallentieren anbelangt, so stehen solche ganz gewiß außer Zweifel. Es fragt sich nur, ob wir diese biologische Beziehung allzu scharf betonen sollen? Wenn die Gallen als etwas Zweckmäßiges gelten sollen, dann müßte man doch annehmen, daß Tiere, die Gallen erzeugen, sich unter allen Umständen besser ernähren können, als andere, die bei sonst gleicher Organisation der Fähigkeit, Gallen zu bilden, ermangeln; und gerade die Blattläuse spielen hierbei eine eigentümliche Rolle. Gewiß steht den Gallentieren reichlich Nahrung zur Verfügung; wieso aber kommt es, daß es zahllose Blattlauspezies gibt, die keine Gallen bilden können, denen nicht die Fähigkeit innewohnt, die Pflanzengewebe in einem für sie „zweckmäßigen“ Sinne abzuändern, umzugestalten, zu „verbessern“, und die sich doch mindestens ebenso gut im Kampf ums Dasein halten, wie ihre galligen Verwandten? Und schließlich frage ich: Ist anzunehmen, daß die Johannisbeerenblattlaus im Frühjahr sich besser ernährt, mithin kräftiger ist als im Juni, zu einer Zeit, wo sie keine Gallen zu bilden mehr vermag? Sind an einer und derselben Pflanze, an der gleichzeitig verschieden alte Blätter den Tieren zur Verfügung stehen, mithin der Grad der Gallbildung Schwankungen unterliegt, die Ernährungsverhältnisse für die Parasiten von Punkt zu Punkt verschieden günstige?

Ein zweites Moment: Eine Zweckmäßigkeit wäre auch denkbar in dem Sinne, daß die Gallrolle eine Schutzfunktion hätte, da die Tiere sich in ihr verbergen können; wie ist es aber damit in Einklang zu bringen, daß beispielsweise die Erreger der Aphidengalle auf *Lonicera* fast sämtlich oder doch überwiegend an der Außenfläche der Gallen saßen und nur ein geringer Prozentsatz innen? Ist ferner anzunehmen, daß die nach Legionen zu zählenden Läuse, die nicht an Blättern, sondern an Stengeln

leben, mithin von allen Seiten Gefahren in Form von Feinden, Regen, Wind usw. ausgesetzt sind, in ihrer Existenz bedroht sind, weil sie nicht in Rollen leben? Und angenommen, die Läuse der letzteren Art wären schwächer, durch den Parasitismus geschwächt, durch den Mangel an Gefahren weniger widerstandsfähig, mithin auf diesen Schutz angewiesen, wie verhält es sich dann mit der Johannisbeerenblattlaus und mit anderen migrierenden Läusen, die einmal in Rollen leben und dann wieder eine freiere Lebensweise führen, mindestens aber lange nicht den „Schutz“ genießen, als in den jungen Rollen im zeitlichen Frühjahr? Und schließlich, wenn schon alles nach Nützlichkeit und Zweckmäßigkeit geprüft werden soll, was für einen Vorteil bedeutet für die Blattläuse die Vergrünung, was haben sie von der Ablenkung der Salixblätter in Organe mit Caulomcharakteren?

Alle diese Tatsachen, vor allem der Umstand, daß für eine ausgiebigere Ernährung parasitärer und zugleich gallenbildender Blattläuse absolut kein Beweis erbracht werden kann, möchten mich bestimmen, für die Aphidiocecidien die biologisch-teleologische Seite der Frage fallen zu lassen und in den Gallen nichts anderes zu erblicken, als eine pathologische Wachstumsreaktion jugendlichen Blattgewebes auf einen Reiz hin, der von den nahrungsschöpfenden Tieren ausgeht, von welcher Beschränkung naturgemäß auch eine allgemeine Definition des Begriffes „Galle“ nicht unbeeinflusst bleiben kann. Die primäre Gallenbildung hat demnach, meiner Ansicht nach, mit der Biologie im Sinne einer, wie immer gearteten, Förderung des Parasiten gar nicht das Mindeste zu tun. Die von Küster betonten ernährungsphysiologischen Beziehungen kann ich daher nur in dem Sinne gelten lassen, daß sie die Ursache der Gallbildung sind, nicht aber eine Folge derselben darstellen müssen.

Denn, wie wir gesehen haben, ist die Vergallung durch Aphiden stets eine Folge von Saugtätigkeit, das Saugen die Ursache, die Vergallung die Wirkung; Die Tiere können (nicht, aber müssen!) auch in dem Gallengewebe weitersaugen; wiederum ist das Saugen die Ursache, weiterer pathologischer Veränderungen, Wucherungen usw. die Wirkung; keineswegs ist aber die Vergallung eingetreten, damit die Tiere weitersaugen sollen oder können, mit anderen Worten: Die pathologischen Gewebe werden wir nicht erst dann Galle nennen, wenn sie neuerdings vom Parasiten in Anspruch genommen werden. Das wesentliche für die Vergallung durch Aphiden ist also, daß die ernährungsphysiologischen Beziehungen für die Gallbildung als Ursache gegeben sind, ohne daß wir ein Recht hätten, zu sagen: eine Galle wird es erst dann, wenn das Tier aus diesem vergallten Gewebe weitersaugt, denn dann würde der Begriff „Galle“ auch von der Zeit abhängen, mithin in eine Definition ein neues Moment, die Dauer der Inanspruchnahme der Gewebe, aufgenommen werden müssen. Um jedem Mißverständnis also vorzubeugen, sei betont: Richtig ist es ohne Zweifel, daß die Tiere auch nach Eintritt des Vergallungsprozesses sich das kranke Gewebe zunutze machen, ja daß es ihnen bei höher organisierten Gallen sehr wertvoll, so notwendig werden kann, daß sie, losgelöst von diesem Nährboden, unfehlbar zugrunde gehen müßten; alles das ist aber nichts anderes als eine Anpassung der Tiere an die neuen Verhält-

nisse, ein einseitiger Entwicklungs- und zugleich mehrseitiger Verkümmierungsprozeß in der tierischen Organisation, der das Tier schließlich zum Sklaven seiner Galle macht, jedenfalls eine sekundäre Erscheinung, deren Eintreten als Kardinalforderung für das Wesen einer Galle anzunehmen, wir nicht das mindeste Recht, aber auch keine Ursache haben.

Küster würde mir vielleicht im Anklang an seine p. 3 seines Gallenbuches gebrachten Gedanken erwidern: Das sind keine Gallen, das sind Wundgewebe, Callusbildungen, und nicht mehr. Wer aber vermag dann überhaupt noch eine Grenze zu ziehen zwischen dem, was als Wundgewebe bezeichnet werden soll, und echten Gallen, wenn beispielsweise saugende Aphiden nach kurzer Zeit die Stelle verlassen und ein kataplasmatisches Gewebe dort zurückbleibt, eine unfertige Galle, die keine Beziehung mehr zum Parasiten hat, wie das die Gallanfänge der *Tetraneura ulmi* häufig zeigen. In Konsequenz dieser Auffassung entsteht die Frage, wenn die ernährungsphysiologischen Beziehungen im Sinne Küsters vorüber sind, die Galle aber erhalten bleibt, was wird dann aus der Galle, haben wir dann noch ein Recht, ein Gebilde, das bisher als Galle gegolten hat, auch weiterhin so zu nennen? Ist dann nicht wiederum der Begriff Galle zeitlich beschränkt? Die Frage kompliziert sich noch mehr, wenn man bedenkt, daß man gegenwärtig den Wundreizen eine vielleicht übergroße Rolle zuzusprechen und Gallen als Chemomorphosen möglichst in Abrede zu stellen, geneigt ist. Schließlich müßten an höheren Gallen, an denen nur bestimmte Gewebezonen ernährungsphysiologisch in Betracht kommen, begriffliche Differenzierungen Platz greifen.

Mit diesen Betrachtungen will ich mich begnügen, jedoch auf eine Definition verzichten, weil es niemals möglich sein wird, in eine Definition alle Fälle einzuordnen und wir schließlich mit Definitionen allein der wissenschaftlichen Gallforschung keine allzu großen Dienste erweisen.

#### Literaturverzeichnis.

1. de Bary, A., Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane. Leipzig 1877.
2. Beijerinck, M. W., Eucalyptusgallen. (Nederl. Kruidk. Arch. Ser. 2. T. 6. 1895.)
3. Buckton, G. B., Monograph of the British Aphides. London 1876.
4. Burdon, E. R., Influence of *Chermes* on Larch Canker. (The Gard. Chron. Vol. 17. 1907. p. 353.)
5. Buscalioni, L. e Muscatello, G., Contribuzione allo studio delle lesioni fogliari. (Malpighia. 1911. p. 27.)
6. Büsgen, M., Der Honigtau. Biologische Studien an Pflanzen und Pflanzenläusen. Jena 1891.
7. Cecconi, G., Zoocecidii della Sardegna. (Marcellia. 1903. p. 24.)
8. Cornu, M., Altération des racines de la vigne sous l'influence du *Phylloxera vastatrix* Planchon. (Bull. soc. botan. d. France. T. 12. 1875. p. 290.)
9. Courcelet, L., Étude sur le groupe des Aphides et en particulier sur les pucerons du térébinthe et du lentisque. Montpellier 1878.
10. —, Étude sur les galls produites par les Aphidiens. Montpellier 1879.
11. Derbès, M. A., Troisième note sur les pucerons du Térébinthe. (Ann. d. scienc. nat. Sér. VI. Zool. et paléont. T. 12. 1881. p. 1.)
12. Diels, L., Der Formbildungsprozeß bei der Blütencecidie von *Lonicera*, Untergattung *Periclymenum*. (Flora. N. F. Bd. 5. 1913. p. 184.)
13. Diez, R., Über die Knospenlage der Laubblätter. (Flora. Jg. 70. 1887. p. 483, 499, 515.)

4. Docters van Leeuwen-Rijnvaan, J. u. W., Einige Gallen aus Java. 2. Beitr. (Marcellia. 1909.)
15. —, Einige Gallen aus Java. 3. Beitr. (Marcellia. 1910. p. 37.)
16. —, Einige Gallen aus Java. 4. Beitr. (Marcellia. 1910. p. 168.)
17. —, Beiträge zur Kenntnis der Gallen auf Java. II. Über die Entwicklung einiger Milbengallen. (Ann. du jard. botan. d. Buitenzorg. T. 23. (8). 1910. p. 119.)
18. —, Kleinere cecidologische Mitteilungen. III. Über die unter dem Einfluß eines Cocciden entstandene Umbildung der oberirdischen Triebe von *Psilotum triquestrum* Sw. in dem Rhizom ähnlich gebaute Wucherungen. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 29. 1911. p. 166.)
19. —, Einige Gallen aus Java. 5. Beitr. (Marcellia. 1911. p. 65.)
20. —, Einige Gallen aus Java. 6. Beitr. (Marcellia. 1912. p. 49.)
21. —, Kleinere cecidologische Mitteilungen. IV. Über die von *Gynaikothrips pallipes* Karny an *Piper sarmentosum* Roxb. (*P. Zollingerianum* Bl.) verursachte Blattgalle. (Marcellia. 1914. p. 127.)
22. Flögel, J. H. L., Monographie der Johannisbeerenblattlaus, *Aphis ribis* L. (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 1. 1905. p. 49, 97, 145, 209, 233.)
23. Frank, A. B., Die Krankheiten der Pflanzen. 2. Aufl. III. Breslau 1896.
24. Geisenheyner, L., Über einige neue und seltenere Zooecidien aus dem Nahegebiet. (Allg. Zeitschr. f. Entomol. Bd. 7. 1902. p. 306.)
25. Göbel, K., Einleitung in die experimentelle Morphologie der Pflanzen. Leipzig 1908.
26. Grevillius, A. Y., Ein Thysanopterencecidium auf *Vicia cracca* L. (Marcellia. 1909. p. 37.)
27. —, Notizen über Thysanopterencecidien auf *Stellaria media* Cyr., *St. graminea* L. und *Polygonum convolvulus* L. (Marcellia. 1910. p. 161.)
28. — u. Niessen, J., Begleitwort zu Zooecidia et Cecidiozoa. Liefg. V. Kempen 1910. p. 18.
29. Graff, L. v., Das Schmarotzertum im Tierreich. (Wissensch. u. Bildg.). Leipzig 1907.
30. Guéguen et Heim, Variations florales tératologiques d'origine parasitaire chez le chèvre feuille. Étude de l'aphidiocécidie florale du *Lonicera periclymenum* L. produite par *Rhopalosiphum xylostei* Schrk. (Compt. Rend. d. l. 30ème sess. d. l'assoc. franc. pour l'avanc. d. scienc. I. 1901. p. 130.)
31. Hartwich, C., Über Gerbstoffkugeln und Ligninkörper in der Nahrungsschichte der Infectoriagalle. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 3. 1885. p. 146.)
32. Hartig, R., Die Buchenbaumlaus, *Lachnus exsiccatior* Altum. (Untersuch. a. d. Forstbot. Inst. München. 1880. p. 151.)
33. —, Die Buchenwollaus, *Chermes fagi* Kltb. (Untersuch. a. d. Forstbot. Inst. München. 1880. p. 156.)
34. Herbst, C., Über die Bedeutung der Reizphysiologie für die kausale Auffassung von Vorgängen in der tierischen Ontogenese. (Biolog. Centralbl. Bd. 15. 1895. p. 721, 753, 792, 818, 849.)
35. Houard, C., Sur une diptéroécidie nouvelle du *Daphne laureola* L. (Marcellia. 1905. p. 59.)
36. —, Modifications histologiques produites par le *Copium* dans les fleurs des *Teucrium*. (Marcellia. 1906. p. 83.)
37. —, Les zoocécidies des Plantes d'Europe et du Bassin de la Méditerranée. T. 1, II. Paris 1908.
38. —, Action des cécidozoaires externes, appartenant au genre *Asterolecanium* sur les tissus de quelques tiges. (Marcellia. 1911. p. 3.)
39. —, Les collections cécidologiques du laboratoire d'entomologie du muséum d'histoire naturelle. (Marcellia. 1914. p. 24.)
40. Houard, Roll., Recherches anatomiques sur les cécidies foliaires marginales. (Marcellia. 1913. p. 124.)
41. Karny, H., Gallenbewohnende Thysanopteren aus Java. (Marcellia. 1912. p. 115.)
42. — u. Docters van Leeuwen-Rijnvaan, J., Beiträge zur Kenntnis der Gallen auf Java. 5. Über die javanischen Thysanopteroecidien und deren Bewohner. (Bull. d. jard. bot. d. Buitenzorg. Sér. II. No. 10. 1913.)
43. Kaßner, P., Untersuchungen über Regeneration der Epidermis. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 20. 1910. p. 193.)

44. Kerner von Marilaun, A., Pflanzenleben. Wien 1891.
45. Keßler, H. F., Neue Beobachtungen und Entdeckungen an den auf *Ulmus campestris* L. vorkommenden Aphidenarten. (26. u. 27. Jahresber. d. Ver. f. Naturk. Kassel. 1880.)
46. —, Die auf *Populus nigra* L. und *Populus dilatata* Ash. vorkommenden Aphidenarten. Kassel 1882.
47. Kieffer, J. J., Description de galles et d'insectes gallicoles d'Asie. (Marcellia. 1908. p. 149.)
48. Koch, C. L., Die Pflanzenläuse. Aphiden. Nürnberg 1857.
49. Küstenmacher, Beiträge zur Kenntnis der Gallbildung mit Berücksichtigung des Gerbstoffes. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 26. 1894. p. 82.)
50. Küster, E., Pathologische Pflanzenanatomie. Jena 1903.
51. —, Cecidologische Notizen. 2. Über zwei einheimische Milbengallen, *Eriophyes diversipunctatus* u. *E. fraxinicola*. (Flora. Bd. 92. 1903. p. 380.)
52. —, Über einige wichtige Fragen der pathologischen Pflanzenanatomie. (Biol. Centralbl. Bd. 20. 1900. p. 529.)
53. —, Aufgaben und Ergebnisse der entwicklungsmechanischen Pflanzenanatomie. (Progress. rei botan. Vol. 2. 1908. p. 455.)
54. —, Die Gallen der Pflanzen. Leipzig 1911.
55. Laboulbène, M. A., Essai d'une théorie sur la production de diverses galles végétales. (Compt. Rend. hebdom. d. séance d. l'acad. d. scienc. Paris. T. 114. 1892. p. 770.)
56. Lacaze-Duthiers, M., Recherches pour servir à l'histoire des galles. (Ann. d. scienc. nat. Sér. III. Botan. T. 19. 1853. p. 273.)
57. Lecailon, A., Sur un puceron (*Aphis papaveris* Fabr.), ennemie de la Betterave. (Bull. d. l. soc. entomol. d. France. 1905. p. 258.)
58. Lindinger, L., Die Schildläuse, Coccidae. Stuttgart 1912.
59. —, Eine weitverbreitete gallenerzeugende Schildlaus. (Marcellia. 1912. p. 3.)
60. Löw, F., Über *Diaspis Visci* Schrank, eine auf der Mistel lebende Schildlaus. (Verhandl. d. zool.-bot. Ges. Wien. Bd. 22. 1872. p. 273.)
61. —, Mitteilungen über Psylloden. (Verh. d. zool.-bot. Ges. Wien. Bd. 29. 1880. p. 549.)
62. —, Beiträge zur Biologie und Synonymie der Psylloden. (Verh. d. zool.-bot. Ges. Wien. Bd. 31. 1881. p. 157.)
63. Magnus, W., Experimentell-morphologische Untersuchungen. (Vorläuf. Mitt.) II. Zur Ätiologie der Gallbildungen. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 21. 1903. p. 129.)
64. —, Die Entstehung der Pflanzengallen, verursacht durch Hymenopteren. Jena 1914.
65. Marx, L. M., Über Intumescenzbildung an Laubblättern infolge von Giftwirkung. (Österr. bot. Zeitschr. Bd. 61. 1911. p. 49.)
66. Massalongo, C., Nuovi zoocécidii della flora Veronese. (Marcellia. 1904. p. 114.)
67. Molisch, H., Mikrochemie der Pflanzen. Jena 1913.
68. Molliard, M. M., Hypertrophie pathologique des cellules végétales. (Rev. génér. d. botan. T. 9. 1897. p. 33.)
69. —, Sur la galle de l'*Aulax papaveris* Br. (Rev. génér. de botan. T. 11. 1899. p. 209.)
70. —, Comparaison des galles et des fruits au point de vue physiologique. (Bull. d. l. soc. bot. d. France. T. 59. 1912. p. 201.)
71. —, Recherches physiologiques sur les galles. (Rev. génér. d. botan. T. 25. 1913. p. 225, 285, 341.)
72. Molz, E., Einige Bemerkungen über die durch *Chermes piceae* var. *Bouvieri* auf *Abies nobilis* hervorgerufenen Triebspitzengallen. (Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstw. 1908. p. 151.)
73. Nießen, J., *Aphis cardui* L. auf *Oenothera muricata* L. (Marcellia. 1908. p. 14.)
74. Peyritsch, J., Zur Ätiologie der Chloranthien einiger *Arabis*-Arten. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 13. 1882.)
75. Pierre, Abbé, Nouvelles cécidologiques du centre de la France. (Marcellia. 1902. p. 95.)
76. Prillieux, M. Ed., Étude sur la formation et le développement de quelques galles. (Ann. d. scienc. nat. Sér. VI. botan. T. 3. 1876. p. 113.)
77. —, Étude des altérations produites dans le bois du pommier par les piqûres du puceron lanigère. (Ann. Inst. Agron. 1877/78. p. 39.)

78. Réaumur, E., Mémoires pour servir à l'histoire des Insectes. 1737.
79. Remisch, F., Die Hopfenblattlaus „*Aphis humuli* Schr.“ (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 7. 1911. p. 240, 282.)
80. Ritter, G. E., Die giftige und formative Wirkung der Säuren auf die Mucoraceen und ihre Beziehung zur Mucorhefebildung. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 52. 1913. p. 351.)
81. Roncali, F., Contributo allo studio della composizione chimica delle galle. Nota II. La galla del *Pemphigus cornicularius*. (Marcellia. 1905. p. 26.)
82. Rudow, Einige merkwürdige Gallbildungen. (Entomol. Jahrb. 1907. p. 73.)
83. Rübsaamen, E. W. H., Beiträge zur Kenntnis außereuropäischer Zoocecidien. (Marcellia. 1910. p. 3.)
84. —, Über Zoocecidien von den kanarischen Inseln und Madeira. (Marcellia. 1902. p. 60.)
85. —, Über Zoocecidien von der Balkanhalbinsel. (Ill. Zeitschr. f. Entom. Bd. 5. 1900.)
86. —, Über australische Zoocecidien und deren Erzeuger. (Berlin. entom. Zeitschr. Bd. 39. 1894. p. 199.)
87. —, Beiträge zur Kenntnis außereuropäischer Zoocecidien. (Marcellia. 1907. p. 110.)
88. —, Beiträge zur Kenntnis außereuropäischer Zoocecidien. III. Beitr. Gallen aus Peru und Brasilien. (Marcellia. 1908. p. 15.)
89. Schmidt, H., Zoocecidien an *Anchusa officinalis* L. (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 5. 1909. p. 402.)
90. —, Eine neue Blattlausgalle an *Crataegus oxyacantha* L. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 21. 1911. p. 133.)
91. Schneider-Orelli, M., Über nordafrikanische Zoocecidien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 32. 1912. p. 468.)
92. Schouteden, H., Les aphidioécidies paléarctiques. (Ann. d. l. soc. entom. d. Belgique. T. 47. 1903. p. 167.)
93. —, Description de deux aphides cécidogènes nouveaux. (Broteria. T. 4. 1905. p. 163.)
94. Schumacher, F., Über einige Heteropterocecidien. (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 8. 1912. p. 225.)
95. Sorauer, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 3. Aufl. Bd. 3.
96. Tavares, J. S., Synopse das zoocecidias portuguesas. (Broteria. T. 4. 1905. p. 1.)
97. Thomas, F., Zur Entstehung der Milbengallen und verwandter Pflanzenauswüchse. (Botan. Zeitg. Bd. 30. 1872. p. 284.)
98. —, Durch Psylloden erzeugte Cecidien an *Aegopodium* und anderen Pflanzen. (Zeitschr. f. d. ges. Naturw. N. F. Bd. 12. 1875. p. 438.)
99. —, Über das Heteropteroecidium von *Tenecium capitatum* und andere *Tenecium*-arten. (Verhandl. d. bot. Ver. d. Prov. Brandenburg. Jg. 31. 1889. p. 103.)
100. —, Eine Bemerkung zu Julius Sachsschen physiologischen Notizen, den Fundamentalsatz der Cecidiologie betreffend. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 16. 1898. p. 72.)
101. —, Die Dipterocecidien von *Vaccinium uliginosum* mit Bemerkungen über Blattgrübchen und über terminologische Fragen. (Marcellia. 1902. p. 146.)
102. Trotter, A., Nuovi zoocecidii delle flora italiana. (Marcellia. 1903. p. 7.)
103. Tschirch, A., Über durch *Astegopteryx*, eine neue Aphidengattung, erzeugte Zoocecidien auf *Styrax Benzoin* Dryan. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 8. 1890. p. 48.)
104. Tuillgren, A., Aphidologische Studien. I. (Ark. f. Zool. Bd. 5. 1909. p. 1—190.)
105. Vosseler, Eine Psyllide als Erzeugerin von Gallen am Mwulebaum. (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 2. 1906. p. 276.)
106. Wehmer, C., Übergang älterer Vegetationen von *Aspergillus fumigatus* in „Riesenzellen“ unter Wirkung angehäufter Säure. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 31. 1913. p. 257.)
107. Weidel, F., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte und vergleichenden Anatomie der Cynipidengallen der Eiche. (Flora. N. F. Bd. 2. 1911. p. 279.)
108. Zimmermann, A., Über einige durch Tiere verursachte Blattflecken. (Ann. d. jard. bot. d. Buitenzorg. T. 17. (2.) 1901. p. 102.)

109. **Zweigelt, F.**, Vergleichende Anatomie der *Asparagoideae*, *Ophiopogonoideae*, *Aletroideae*, *Luzuriagoideae* und *Smilacoidaeae* nebst Bemerkungen über die Beziehungen zwischen *Ophiopogonoideae* und *Dracaenoideae*. (Denkschr. d. mathem. naturw. Kl. d. Kais. Akad. d. Wiss. Wien. Bd. 88. 1912. p. 398 ff.)
110. —, Das Saugphänomen der Blattläuse. (Vorläuf. Mitt.) (Tätigkeitsber. d. bot. Versuchslab. u. Labor. f. Pflanzenkrankh. Klosterneuburg. 1912/13.)
111. —, Was sind die Phyllokladien der Asparageen? (Österr. bot. Zeitschr. 1913.)
112. —, Beiträge zur Kenntnis des Saugphänomens der Blattläuse und der Reaktionen der Pflanzenzellen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 42. 1914. p. 265.)
113. **Guttenberg, H. v.**, Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilzgallen. Leipzig 1905.
114. **Haberlandt, G.**, Physiologische Pflanzenanatomie. 4. Aufl. Leipzig 1909.

### Referate.

**Will, H.**, Experimentelle Untersuchungen zur Methodik der biologischen Untersuchung von Brauwasser. Verhalten der Organismen des gleichen Wassers gegenüber der Würze verschiedener Brauereien. (Zeitschr. gesamt. Brauwesen. Bd. 38. 1915. p. 329.)

Die Entwicklung der Wasserorganismen in Würze wird sehr wahrscheinlich in erster Linie von der Menge der gelösten, antiseptisch wirkenden Hopfenbestandteile reguliert. Ferner ist anzunehmen, daß die Entwicklungsfähigkeit der Organismen in der Würze durch die Zusammensetzung des verwendeten Malzes überhaupt und durch den allgemeinen Charakter des Malzes, wie er durch den jeweiligen Gerstenjahrgang bedingt wird, abhängig ist. Jedenfalls sind also bei der biologischen Beurteilung von Brauwasser in Hinsicht auf die Zusammensetzung der Würze Momente zu berücksichtigen, welche bis jetzt noch nicht berücksichtigt worden sind. Ausgeschlossen ist es auch nicht, daß das Brauverfahren in Frage kommt. Systematische Untersuchungen, welche alle angeführten Momente im einzelnen berücksichtigen, liegen bis jetzt nicht vor. Um überhaupt einmal einen Überblick über die obwaltenden Verhältnisse in ihrem Einfluß auf die Entwicklungsmöglichkeit der im Brauwasser enthaltenen Organismen zu gewinnen, hat Verf. durch **O. Schimon** und **R. Heuß** Versuche ausführen lassen, welche zunächst dartun sollen, wie sich die Organismen des gleichen Wassers unter sonst gleichen Verhältnissen gegenüber der Würze verschiedener Brauereien verhalten.

Bei sämtlichen Untersuchungen kam dunkle Bierwürze aus 4 Münchener Brauereien zur Verwendung. Von jeder Würze war eine größere Menge beschafft, auf die gleiche Konzentration von 11,5 Proz. B gebracht und in der üblichen Weise im Dampftopf sterilisiert worden. Von Zeit zu Zeit wurde je nach Bedarf die Würze auf **Freudenreich**-Kölbchen in Mengen von 10 ccm abgefüllt. Die Beimpfung der **Freudenreich**-Kölbchen mit den verschiedenen Wasserproben geschah in der üblichen Weise mit

einer Pipette, deren Ausflußöffnung so beschaffen ist, daß 1 ccm = 20 Tropfen gibt. Von jeder Würze wurden 20 Kölbchen mit je einem Tropfen des Wassers geimpft. Die geimpften Kölbchen wurden in den Thermostaten zu 25° C gebracht.

Die Versuchsergebnisse boten z. T. große Überraschungen, insofern als bei einer Wasserprobe (No. 11) in zwei Würzen überhaupt keine Organismen zur Entwicklung kamen, während die dritte noch eine sehr hohe Entwicklungsenergie und -kraft und die vierte wenigstens eine sehr hohe Entwicklungskraft aufweist. Ähnlich verhielt sich eine zweite Wasserprobe (No. 9). Im übrigen weisen die untersuchten Wasserproben teilweise die größten Schwankungen auf.

Alle diese Erscheinungen geben einen Fingerzeig dahin, daß in einem Teil der Wasserproben Organismen enthalten waren, welche gegenüber den in den 4 Versuchswürzen gelegenen Entwicklungshemmungen viel empfindlicher waren, als die Organismen der übrigen Wasserproben. Möglicherweise kommen hier Substanzen in minimalster Menge in Betracht, welche chemisch nicht mehr nachgewiesen werden können, auf welche aber noch Organismen reagieren.

Für die biologische Untersuchung von Brauwasser ergibt sich hieraus, daß kaum ein unrichtiges Bild von dem Verhalten der in jenem enthaltenen Organismen gegenüber Würze gewonnen wird, wenn die Untersuchung im eigenen Betrieb mit der in dieser erzeugten Würze durchgeführt wird. Bei der Verwendung von fremder Würze kann, außer bei sehr stark und sehr gering mit Organismen verunreinigten Wassern, unter Umständen ein vollständig unrichtiges Bild von dem biologischen Bestand des Wassers und von dessen Verhalten gegenüber der Würze des eigenen Betriebes erhalten werden. Die notwendige Folge hieraus ist, daß die Untersuchungslaboratorien für die biologische Begutachtung von Brauwasser nur die Würzen des betreffenden Brauerei-Betriebes verwenden sollten. Praktisch ist dies jedoch wohl undurchführbar oder mindestens mit großen Umständlichkeiten verknüpft. Unter diesen Umständen muß danach gestrebt werden, eine leicht erreichbare Würze zu verwenden, welche rasch den biologischen Bestand eines Brauwassers qualitativ in die Erscheinung treten läßt. Schon wiederholt hat Verf. darauf hingewiesen, daß es Brauereien gibt, deren Würzen dadurch charakterisiert sind, daß sie im allgemeinen Fremdorganismen viel leichter aufkommen lassen als Würzen aus anderen Brauereien.

Das verschiedene Verhalten der Wasserorganismen gegenüber verschiedenen Würzen kommt auch jedenfalls für die Fremdorganismen in Betracht, welche die Würze auf dem Külschiff aufgenommen hat.

A u t o r e f e r a t.

**Gyulay, Kár.,** Das Bitterwerden der Weine und deren Behandlung. (Borászati Lapok. Jg. 46. 1914. p. 652.)

Nach P a s t e u r leiden zumeist Rotweine (besonders die um Pinot) durch das Bitterwerden. Verf. fand, daß auch gerbstoffreiche Weißweine befallen werden. Eine frühzeitige Weinlese ist zu empfehlen, da starker Säuregrad das Bitterwerden verhindert. Ist diese unmöglich, so ist der Wein abzuziehen und mit stark säurehaltigen Weinen zu verschneiden. Die ungarischen Weine waren zumeist *Bacillus vini*-frei. — Über die physiologischen Wirkungen der das Bitterwerden der Weine hervorruhenden Gärstoffe und ihre Wirkungsart ist noch wenig bekannt.

M a t o u s c h e k (Wien).



Held, D., Versuche und Gedanken über die konservierende Wirkung der Benzoesäure. (Arch. f. Hyg. Bd. 84. 1915. p. 289—336.)

In einer Vorbemerkung werden zuerst die physikalischen Methoden zur Sterilisierung von Nahrungsmitteln erörtert. Da man aber z. B. die Hitze, weil sie einzelne Nahrungsmittel zu eingehend verändert, nur in beschränktem Maße anwenden kann und mit Kälte in ländlichen Kleinbetrieben sich nur wenig erreichen läßt, mit Trocknen und Rauch aber häufig eine unerwünschte Beeinflussung des Geschmacks verbunden ist, so verbleiben eigentlich nur die chemischen Einwirkungen. — Letztere aber bedingen immer wieder neue Studien, weil im Laufe der letzten Zeit manche früheren chemischen Konservierungsmittel wegen ungünstiger Einwirkung auf den menschlichen Körper, wie z. B. Flußsäure, Borsäure, ebenso wie schweflige Säure und auch vielfach Salizylsäure abgelehnt wurden. In neuester Zeit ist Benzoesäure an deren Stelle getreten und keinerlei Erfahrungen sprechen gegen deren ausgedehnteste Verwendung. Sowohl einzelne große Dosen als Fortsetzung kleiner Dosen wurden gut vertragen; begründet kann solches sein durch das Vorkommen derselben in Nahrungs- und Genußmitteln z. B. Preiselbeeren und ferner durch ihr Auftreten als Stoffwechselprodukt verschiedener Nahrungsmittel. Nach den einleitenden Worten werden die Organismen besprochen, welche ein Verderben der Büchsenkonserven herbeiführen und gegen welche Benzoesäure wirken soll. Hier führt Verf. an, daß alle hierbei in Frage kommenden Mikroben Sporenbildner sind, von denen die meisten längst bekannt sind, aber auch einzelne noch nicht identifizierte gefunden und mit neuen Namen belegt wurden. Held verwendete zu seinen Versuchen Stämme, welche er selbst aus Heu, Boden und Kartoffeln gezüchtet hatte, ferner auch erprobte Institutsstämme. — Die Frage „tritt die Hemmung der Sporenkeimung durch Benzoesäure früher ein als die Hemmung der vegetativen Vermehrung der Bazillen“ bildet den 3. Teil der Arbeit, welcher sich dann der 4. Teil anschließt „warum brauchen wir auf saurem Nährboden weniger Benzoesäure zur Hemmung des Bakterienwachstums als auf neutralem“. In beigegebenen Tafeln werden die sehr interessanten Ergebnisse graphisch hervorgehoben. Hieran schließen sich Kontrollversuche über die Wirkungen von Schwefelsäure und Benzoesäure“ und „welche Stoffe in unseren Agarnährböden die Säurebildner sind“. Die Versuche über das Wachstum von *Penicill. glaucum* auf benzoe- und weinsäurehaltigen Nährböden und die Frage, ob die Toxinbildung durch Benzoesäure vielleicht früher gehemmt wird als die Vermehrung der Bazillen vor sich geht, sind von hervorragendem Interesse. Besondere Besprechungen folgen dann noch über die Stärken der Säuren, über die Art der Desinfektionswirkung der Benzoesäure, Desinfektionsversuch mit Zimmtsäure und Konservierung von Zitronensaft mit Benzoesäure. Den Schluß dieser sehr eingehenden Arbeit faßt Verf. in nachfolgenden Sätzen zusammen:

Der zur Hemmung des Wachstums benötigte Gehalt an Benzoesäure ist für alle sechs untersuchten Bazillenstämme der gleiche (s. S. 333). — Es macht keinen Unterschied, ob man frisch gezüchtete oder lang im Laboratorium kultivierte Stämme verwendet. — Bazillen und Sporen werden immer bei den gleichen Konzentrationen der Benzoesäure in der Entwicklung gehemmt. Es besteht also keine besondere Empfindlichkeit der Sporen gegenüber den Bazillen gegen Benzoesäure und es geht nicht an, etwa durch Zusatz sehr kleiner Benzoesäuremengen zu Konserven die Keimung der

Sporen in spezifischer Weise verhindern zu wollen. Diese störende Dose beträgt für den üblichen streng neutralisierten Fleischpeptonagar 3 pro mille. — Nur ein kleiner Teil dieser Benzoesäure übt die desinfizierende Wirkung aus, der größte Teil wird durch die Eiweißsubstanzen der Nährböden, die leicht Säure binden, zu unwirksamen Stoffen gebunden. Dieser große Teil, etwa  $\frac{4}{5}$ , der Benzoesäure läßt sich darum ganz glatt teilweise oder ganz durch die gleiche Menge anderer Säuren, die selbst nicht spezifisch desinfizierend wirksam zu sein brauchen, aber stärker sind als Benzoesäure, ersetzen. — Mit steigendem Weinsäure- oder Schwefelsäuregehalt nimmt daher die Menge der notwendigen Benzoesäure stark ab (siehe Text). — Benzoesäure eignet sich schlecht zur Konservierung von eiweißhaltigen, neutral reagierenden Substanzen, aber ausgezeichnet von eiweißarmen, sauer reagierenden. Sie verdankt ihre desinfizierende Kraft ihrer Lipidlöslichkeit und wirkt desinfizierend als ungespaltenes Molekül. Ferner verringert sie die Toxinbildung von *Bac. botulinus*, je mehr Benzoesäure sich im Nährboden befindet, desto weniger Gift wird gebildet. Möglicherweise existiert eine Benzoesäure-Konzentration, bei welcher die Toxinbildung vollkommen aufhört, die Bazillen sich aber noch vermehren, doch wird sie jedenfalls so dicht bei dem das Bazillenwachstum hemmenden Konzentrationsmaximum liegen, daß solches ohne praktische Bedeutung ist. — Stärkekleister mit 2 $\frac{0}{\infty}$  Benzoesäure ist während zwei Monaten absolut haltbar, ebensolange eine Appreturmasse; mit 1 pro mille hält sich ebensolange Zitronensaft. — In neutralen Nährböden, die größtenteils aus Wasser bestehen und eiweißartige Stoffe enthalten, ist Zimmtsäure kein brauchbares Konservemittel. Über die Brauchbarkeit in sauren Lösungen fehlen Versuche. (G. C.)

R u l l m a n n (München).

**Kossowicz, A., Die Zersetzung und Haltbarmachung der Eier.** 8 $\frac{0}{\infty}$ . V und 74 pp. Wiesbaden (J. F. Bergmann) 1914.

1. Die historische Einführung über das Thema umfaßt  $\frac{2}{3}$  der Arbeit. Auf Grund der eingehenden Literatur konnte Verf. verschiedene Irrtümer der Forscher feststellen. Über die Konservierung der Eier durch Kälte nach vorangehender CO $_2$ -Imprägnierung (Methode Lescardé), über das Einlegen der Eier in Kalkmilch oder Wasserglaslösung hat zwar Verf. bereits Versuche angestellt, diese führten aber bisher zu keinen greifbaren Resultaten.

2. Im zweiten Teile der Arbeit teilt Verf. seine eigenen Untersuchungen mit. Gewöhnlich erfolgt eine Infektion des Eies später. Frische Eier sind selten bakterienfrei. Sehr leicht und sehr schnell fand eine Infektion mit *Bacillus proteus vulgaris* statt, auch *Bacterium prodigiosum*, *Bacillus mesentericus niger* und *ruber*, ferner mit einigen *Sarcina*-Arten. Unter geeigneten Bedingungen haben Schimmelpilze (*Aspergillus niger*, *A. glaucus*, *Penicillium glaucum*, *P. brevicaulis*, *Cladosporium herbarum*, *Phytophthora infestans* usw.) die Schale, namentlich älterer Eier, durchdringen können. Auch mit *Saccharomyceten*, *Monilia candida*, *Oidium lactis* ergaben sich ganz analoge Resultate.

M a t o u s c h e k (Wien).

**Dold, H., u. Li mei ling, Bakteriologische Untersuchungen über die faulen Eier der Chinesen.** (Arch. f. Hyg. Bd. 85. p. 300 ff.)

Der Genuß fauler Eier bildet bei den luxuriösen Gastmählern der Chinesen

schon seit alten Zeiten eine regelmäßige Erscheinung. Schon vor 1400 Jahren hat der Gelehrte Chia Szu Sai hierüber unter dem Titel „eine Sammlung wichtiger landwirtschaftlicher Methoden für die allgemeine Bevölkerung“ ein Buch veröffentlicht, woraus die damals schon bekannte konservierende Eigenschaft des Kalkes hervorgeht, wonach man ein Ei mit Kalk umhüllen soll, dann kann man es als Speise lange, ohne zu verderben, erhalten. Entsprechend der häufigen Verwendung konservierter alter Eier ist deren Herstellung eine so vielseitige, daß man sogar von einer Art Fabrikgeheimnissen sprechen kann. Am allgemeinen werden die dort sehr billigen Eier (3 Eier = 1 Cent, d. i. 1—2 Pf.) mit einer aus der Asche der Bohnenpflanze, ferner aus Lauge, Erde, Reisschalen, Kalk und Wasser bestehenden Mischung einzeln umhüllt und völlig hiermit zugedeckt und etwa 500—1000 Stück in ein Gefäß gelegt, in welchem sie 1—2 Jahre und länger verbleiben. Mit ihrer erdigen Umhüllung kommen sie in den Handel; die nur einige Monate alten Eier schmecken nach chinesischer Auffassung nicht gut und gelten sogar mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit als gesundheitsschädlich. Je älter sie aber sind, desto besser wird der Geschmack und sollen 10—50 jährige und noch ältere Eier im Handel sein. Nach weiteren allgemeinen Angaben gehen die Verff. auf die bakteriologische Untersuchung über, bei welcher sie nach entsprechender Vorbehandlung sterile Entnahmen aus der Mitte der Eier machten und die Kulturen bei Zimmertemperatur und bei 37° 5 Tage stehen ließen. Tierimpfungen wurden an weißen Mäusen angestellt und zwar einesteils mit frisch entnommenen Eiermaterial, aber auch mit aus den Eiern herausgezüchteten zumeist wohl pathogenen Arten. Stets überzeugte man sich nach Entfernung der erdigen Hülle und geschehener Abwaschung vor weiterer Verarbeitung von der Unversehrtheit der Eierschale. Das Aussehen des Eiinnern ist meist grünlich-braun und beim Öffnen entströmt ein kräftiger Schwefelwasserstoffgeruch, so daß meistens Bleiacetatpapier gebräunt wurde. Der Inhalt der faulen Eier ist nicht flüssig, sondern fest, wie gekocht und der Unterschied zwischen Eiweiß und Dotter geschwunden, so daß nur eine grünlich-bräunliche Grundfärbung besteht, die aber konzentrische Ringe bildet. Die zwischen Eischale und Eiweiß liegende Haut ist auffallend dick und derb geworden. — Die Verff. haben 25 Eier verschiedensten Alters untersucht, wobei in 16 Fällen die geimpften Tiere innerhalb 2—13 Tagen eingingen. Alle untersuchten Eier waren über ein Jahr alt; die meisten 2 und einige sogar 3 Jahre alt. Alle waren äußerlich unverletzt und trotzdem war keines keimfrei, im Gegensatz zu den bisherigen Untersuchungen frischer Eier. Aus den erzielten quantitativen Bestimmungen des Bakteriengehaltes der alten Eier ergab sich, daß zwischen Bakteriengehalt und Alter keine Beziehungen bestehen. Am häufigsten wurden die sporentragenden, obligat oder fakultativ anaerob wachsenden Arten angetroffen. Die überwiegende Zahl der gefundenen Keime betraf nicht pathogene oder nicht obligat pathogene Bakterien; es fanden sich aber auch Rauschbrand-, Milzbrand- und Tetanusbazillen, abgesehen von den nicht streng pathogenen Aktinomyeten und Pneumokokken. Daß aber Eier mit diesen Bakterien ohne Folgeerscheinungen von Menschen genossen werden können, ist bei unserer Kenntnis der Biologie und Pathologie dieser Krankheitserreger erklärlich. — Um über den Befund, daß alle faulen Eier infiziert waren, sich klar zu werden, sei hervorgehoben, daß nach den Untersuchungen frischer Eier ein Eindringen von Bakterien in seltenen Fällen vor der Bildung der harten Eischale im Eileiter und im Eihalter von der Kloake her erfolgen kann

und erfolgt. Es muß also in den von den Verff. beschriebenen Fällen die Infektion von außen, also durch die Kalkschale vor sich gehen und da bietet das jahrelange Liegen in erdiger Umhüllung Gelegenheit. Zunächst ist das Eindringen beweglicher Bakterien in das Eiinnere schon früher beobachtet worden und hier nun dürften alle Arten eindringen können, da das lange Liegen in der Lauge enthaltenden Mischung, welche eine teilweise Lockerung der harten Eischale, ohne ein direktes Zerreißen derselben zu bewirken, herbeiführt, zu erklären sein. Ganz geringe Flüssigkeitsströmungen können auch unbewegliche Bakterien, so lange das Eiinnere noch nicht ganz fest geworden ist, zum Eindringen befähigen. R u l l m a n n (München).

**Henneberg, W.,** Das Sauerkraut [Sauerkohl]. (Sonderabdr. a. Deutsch. Essigind. Jahrg. 20. 1916. No. 21—32. 91 pp.) Berlin (Institut f. Gärungsgew.) 1916.

Verf. behandelt die Bereitungsweise des Sauerkrautes im Einzelhaushalt und im fabrikmäßigen Betrieb, die biologischen Vorgänge dabei, die Pilzflora und die Herstellungsweisen mittelst der vom Institut zu beziehenden Reinkulturen der beteiligten Pilze. Am wichtigsten sind bei der Sauerkrautbereitung die Milchsäurebakterien und die Alkohol bildenden Hefen, stets vorhanden, aber überflüssig oder schädlich die an der Oberfläche wachsenden Kahlhefen und Milchschemelpilze. Was die Milchsäurebakterien und Hefen anlangt, so können wir stets mehrere Arten in annähernd gleicher Menge nebeneinander oder die eine oder andere Art in der Vorherrschaft bei den verschiedenen Sauergärungen der Haushaltungen und Fabriken beobachten. Man findet nie 2 genau gleiche Bilder. Verf. hat zu verschiedenen Zeiten 12 Analysen an Sauerkraut des Handels ausgeführt, wovon 9 Proben aus Berliner Kaufläden, 1 aus einer Haushaltung und 2 unmittelbar aus großen Fabriken entnommen wurden.

In 10 Proben fand sich die kleine Sauerkohlhefe *Saccharomyces brassicae fermentatae* Henneb. n. sp. und eine große Preßhefenart; Kahlhefe (*Mycoderma variabilis*) wurde in 4 Proben, eine Fruchtätherhefe (*Anomalus*) in 2 Proben gefunden. Die *Exiguus*-hefe, eine längliche, kleine, ebenfalls zur Minorgruppe gehörende Hefe, und 3 *Torula* arten fanden sich in den Gärbottichen einer Fabrik. Unter den Milchsäurebakterien wurde am häufigsten *Pediococcus acidilactici* und eine kleinzellige Art von *Pediococcus* (in 10 Proben, nicht im Haushaltungskohl und Fabrikohl) gefunden, *Bacterium lactis acidii* in 4 Fällen, *Bacillus cucumeris fermentati* Henneb. und seine gasbildende Varietät — dem *Bacterium brassicae* Wehmer nahe verwandt — in den obigen 10 Proben; von anderen Milchsäurepilzen konnten mit Sicherheit nachgewiesen werden: *B. Leichmanni* 2 mal, *B. Beijerincki* 5 mal, *B. brassicae fermentatae* (?) 5 mal, höchstwahrscheinlich *B. Hayducki*, eine kleine, kettenbildende Art 3 mal und der Flockenmilchsäurepilz *B. Listeri* 1 mal, eine unbestimmte Art 4 mal. Colibakterien wurden, ebenso wie Essigbakterien, nur einmal festgestellt, *Mucor* hefe einmal im Haushaltungskohl, Verunreinigungen durch *Oidium* und *Penicillium* öfter in den von der oberen Schicht herrührenden Verunreinigungen.

In einigen Fällen wurden durch Auszählung annähernd die Mengenverhältnisse festgestellt. Eingehend schildert Verf. die Kohlgärungsversuche im Laboratorium, Einsäuerungen mit Pilzeinsaat von verschiedenen Sauer-

krautproben und Kontrollproben ohne Pilzeinsaat, Reinkultur-Einsäuerungen mit Milchsäurepilzen und Hefereinkulturen, Haltbarmachung des fertigen Reinkultursauerkrautes; die Herstellung des Komstkrautes (des vor der Impfung gekochten Weißkohles). Die letzten Kapitel handeln von der Vorzüchtung der Reinkulturpilze, den zur Kohlsäuerung besonders geeigneten Milchsäurepilzen, den eigentlichen Sauerkrauthefen (Vergleich mit den Sauerteighefen, Beschreibung des *Saccharomyces panis fermentati* n. sp. aus dem Sauerteig. Vorkommen der Preßhefe im Sauerkohl. Beschreibung des *S. brassicae fermentatae* aus dem Sauerkohl).  
Ludwig (Greiz).

**Archer, R. T.,** *Milking machines in Victoria.* (Journ. Dept. Agric. Victoria. Vol. 13. 1915. p. 33—40.)

Die Ergebnisse viermonatlicher Versuche werden mitgeteilt. Drei Lawrence-Kennedy-Maschinen wurden geprüft. Im Durchschnitt belief sich der Keimgehalt in der mit der Hand ermolkenen Milch auf 7500, in der mit der Maschine ermolkenen auf 6500 Keime pro ccm. In 25 Fällen enthielt jene, in 12 Fällen diese eine wesentlich höhere Keimzahl. Ein Ansteigen der Zahl (infolge fortgesetzten Gebrauchs der Maschinen) war nicht zu konstatieren.  
Löhnis (Washington).

**Burri, R. u. Hohl, J.,** Beiträge zur Kenntnis der wissenschaftlichen Grundlagen der Milchgärprobe. T. I. Keimarme Milch als Mittel zur Abklärung der Vorgänge, welche den Ausfall der Gärprobe bedingen. (Schweiz. Milchzeitg. 1916. No. 3, 5, 6—8.)

Die vorliegende Arbeit zerfällt in 3 Abschnitte:

- A. Die Bakterien der gewöhnlichen frisch gemolkenen Milch.
- B. Gewinnung und Eigenschaften einer möglichst bakterienarmen Milch.
- C. Das Verhalten von Milchproben verschiedener bakteriologischer Beschaffenheit in der Gärprobe.

Verff. sind der Ansicht, daß die aus dem Euter stammenden Bakterien im allgemeinen höchstens den zehnten Teil der in frisch gemolkener Milch enthaltenen Bakterien ausmachen dürften. Die früher verbreitete Annahme, daß sich an oder in der Zitzenmündung eine Bakterienansammlung, ein Bakterienpfropf bilde, der als besonders ergiebige Quelle der Euterbakterien in Betracht käme, hat durch die Untersuchungen von Lux und Uhlmann nicht bestätigt werden können. Von besonderem Interesse ist eine in vorliegender Arbeit erwähnte Beobachtung, wonach jede Kuh, vorausgesetzt, daß die mit 4 Kühen vorgenommenen Versuche eine Verallgemeinerung gestatten, im Euter als ständige Bewohner gewisse Bakterien hat, die über einen längeren Zeitraum immer wieder festgestellt werden können, die sich also mehr oder weniger fest angesiedelt haben und für die betreffende Kuh aus diesem Grunde die Bedeutung eines Charakteristikums annehmen. Als Vertreter dieser charakteristischen Euterflora werden verflüssigende, weiße Kokken, Streptokokken und das verflüssigende *Bact. Güntheri* (= verflüssigender *Streptococcus lactis*) genannt. Die verflüssigenden weißen Kokken sind zweifellos identisch mit gewissen der von Gorini in aseptisch gemolkener Milch gefundenen und als säure- und labbildende Kokken bezeichneten Typen. Das als „verflüssigendes *Güntheri*“ bezeichnete Euterbakterium verhält sich der Milch gegenüber, falls es Gelegenheit hat, sich in derselben zu vermehren, derart, daß es als Milchschildling zu fürchten ist. Ähnlich wie die stark

labbildenden Kokken, kann es nämlich die Ursache des als käsiger oder käsigeriger bezeichneten Gerinnungsbildes der Milch in der Gärprobe sein. Es kommt daher als grundsätzlich neuer Gesichtspunkt jedenfalls für das Studium der Fehlgärungen in Milch und Käse die Möglichkeit in Betracht, daß die Euterbakterien nicht immer aus harmlosen Arten, sondern gelegentlich auch aus solchen bestehen, die auf die Milch und die aus ihr bereiteten Erzeugnisse in ungünstigem Sinne wirken.

Die Hauptergebnisse der vorliegenden Arbeit werden in folgenden Schlußsätzen zusammengefaßt:

1. Durch Anwendung eines Melkverfahrens, dem hauptsächlich eine gründliche Reinigung der Hände des Melkers und des Euters der Kühe, sowie das Auffangen der Milch in einem sterilisierten, enghalsigen Gefäß zugrunde liegt, wurden für die Milch von 4 Kühen des Liebefeldstalles durchschnittliche Keimzahlen pro 1 ccm erhalten, die ungefähr zwischen 100 und 400 schwanken.

2. Da die zu verschiedenen Zeiten in der Milch einer einzelnen Kuh gefundenen Keimarten sehr gleichartig, bei verschiedenen Kühen aber verschieden waren, so durfte der Schluß gezogen werden, daß die betreffenden Bakterien aus dem Euter und nicht aus den gewöhnlichen Verunreinigungsquellen der Milch stammen.

3. Die nähere Untersuchung hat ergeben, daß von 4 Kühen 2 im Euter eine Bakterienart sozusagen in Reinkultur beherbergten, die ihrer Eigenschaften wegen als Milchsäurebakterium betrachtet werden darf. Sie bringt nämlich das Kasein der Milch zu käsiger Gerinnung unter Abscheidung ausgesprochener bitterer Molken. Die Frage, ob und bis zu welchem Grade dieser Organismus unter praktischen Verhältnissen in Milch oder Milchprodukten eine unerwünschte Rolle spielen könnte, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

4. Die Tatsache, daß anscheinend durchaus gesunde Kühe im Euter während längerer Zeit Bakterien beherbergen können, deren Eigenschaften als verdächtig bezeichnet werden müssen, ist bemerkenswert und läßt für das Studium der Milchfehler überhaupt wie für die Aufklärung besonderer Fälle in der Praxis die vermehrte Heranziehung und Untersuchung von aseptisch gewonnenen Milchproben, welche womöglich nur die im Euter vegetierenden Mikroorganismen enthalten sollten, als wünschenswert erscheinen.

Kürsteiner (Liebefeld-Bern).

Ayers, S. Henry, and Johnson, W. T. jnr., *The Alcohol Test in Relation to Milk*. (U. S. Departm. of Agric. Bull. No. 202, 1915.)

The authors summarize their paper as follows:

The alcohol test as generally used consists in the mixing of equal volumes of alcohol and milk. Usually 2 cubic centimeters of 68 per cent alcohol are added to 2 cubic centimeters of milk and shaken gently in a test tube. The test is considered positive when a precipitate is formed, or in other terms, when a coagulum is produced.

As to the relation of the alcohol test to milk from a single cow, it seems evident from the work of other investigators, which is confirmed to some extent by our results, that a positive 68 per cent alcohol test indicate some change in the milk from its normal condition. In our opinion the value of the alcohol test with milk from a single cow or small herd lies in the fact that it would show that the milk was abnormal, and in consequence a careful examination should be made of the herd.

When the relation of the alcohol test to mixed market milk is discussed

we must consider it on an entirely different basis. In this case the test with 68 per cent alcohol may be positive as a result of changes produced in milk through bacterial action. The results of our work confirm some of the results of other investigators and show that the alcohol test may be positive as a result of the growth in milk of lactic-acid and rennet-forming bacteria. When the growth of these bacteria has reached a point where the acid or rennet is produced in sufficient quantities to affect the casein a coagulation is produced when equal volumes of 68 per cent alcohol and milk are mixed. Our results, however, do not show that there is any relation between the alcohol test and the number of bacteria in milk. During an examination of 177 samples of raw milk we found that 20 samples gave a positive test with 68 per cent alcohol. Of these 20 samples 8, or 42.1 per cent, contained less than 500,000, and 11, or 57.9 per cent, more than 500,000 bacteria per cubic centimeter. It was also found that 39.4 per cent of 142 samples of milk which gave no positive alcohol tests contained over 500,000 bacteria per cubic centimeter. That there is no definite relation is probably explained by the fact that bacteria may increase in large numbers before there is much acid or rennet produced. Consequently, if an alcohol test were made during that period there would be a high bacterial content and yet not enough change produced in the milk by acid or rennet to cause a positive test. Besides this point it must be remembered that in market milk there is a bacterial flora representing many different species, many of which may increase without influencing the alcohol test.

Generally speaking, when the bacterial fermentations have advanced to a point where chemical changes are produced, the alcohol test will be positive as a result of lactic or rennet fermentations, or a mixture of both. In such cases the alizarol test may be of more value than the plain alcohol test, so far as it may give additional information as to the kind of fermentation. From our results it seems evident that the acid-and-rennet fermentations may be differentiated by means of neutralization of the acidity by sodium hydrate.

The alcohol titration method according to our tests seems to offer no particular advantages over the alcohol test. In a study 116 samples we were not able to find any definite relation between the alcohol titration and the bacterial count.

A u t h o r a b s t r a c t .

**Weinzirl, John, and Veldee, M. V.,** A bacteriological method for determining manual pollution of milk. (Amer. Journ. Publ. Health. Vol. 5. 1915. p. 862—866.)

The presence of *B. sporogenes* in milk is proposed as an indicator for determining manual pollution. The milk is heated in tubes containing paraffin, and then incubated at 37 degrees. This method can be employed on pasteurized milk, where the *B. coli* test is worthless.

A. C. E v a n s (Washington).

**Delépine, S.,** Report to the Local Government Board upon the effects of certain condensing and drying processes used in the preservation of milk upon its bacterial contents. (Repts. Loc. Govt. Bd. [Great Britain] Public Health and Med. Subjects. New Ser. No. 97. 1914 [Food Repts. No. 21]. 49 pp. 7 Abb.)

Die Keimabnahme war am stärksten bei der Herstellung gesüßter, kondensierter Milch, weniger hoch bei der Walzentrocknung und verhältnismäßig am geringsten bei der Trocknung im heißen Luftstrom, trotzdem hier die bei 70—75° C pasteurisierte Milch der Einwirkung des 115° C heißen Luftstromes in feinsten Verteilung ausgesetzt war. Neben Sporenbildnern blieben in allen drei Fällen auch Tuberkelbazillen am Leben. Durch nachträgliche Infektionen werden zahlreiche Keime von neuem beigemischt. Unmittelbar nach dem Trocknen enthielt das Milchpulver bei Anwendung des Walzenverfahrens 70—300 Keime pro ccm, beim Heißluftverfahren aber 10 000—15 000. Die nachträglichen Infektionen erhöhten die Zahlen in der kondensierten Milch bis auf 161 000, in den Milchpulvern bis auf 146 000—154 000 pro ccm.

L ö h n i s (Washington).

### Inhalt.

#### Original-Abhandlungen.

- Müller, Kurt**, Untersuchungen über sterilisierte Backhaus-, Enzyma- und Uviol-Milch, p. 385.  
**Zweigelt, Fritz**, Blattlausgallen, unter besonderer Berücksichtigung der Anatomie und Aetiologie, p. 408.

#### Referate.

- Archer, R. T.**, Milking machines in Victoria, p. 541.  
**Ayers, S. Henry and Johnson, W. T. jnr.**, The Alcohol Test in Relation to Milk, p. 542.  
**Burri, R. u. Hohl, J.**, Beiträge zur Kenntnis der wissenschaftlichen Grundlagen der Milchgärprobe. T. I. Keimarme Milch als Mittel zur Abklärung der Vorgänge, welche den Ausfall der Gärprobe bedingen, p. 541.  
**Delépine, S.**, Report to the Local Government Board upon the effects of certain condensing and drying processes used

- in the preservation of milk upon its bacterial contents, p. 543.  
**Dold, H. u. Li mei ling**, Bakteriologische Untersuchungen über die faulen Eier der Chinesen, p. 538.  
**Gyulay, Kár.**, Das Bitterwerden der Weine und deren Behandlung, p. 536.  
**Held, D.**, Versuche und Gedanken über die konservierende Wirkung der Benzoesäure, p. 537.  
**Henneberg, W.**, Das Sauerkraut [Sauerkohl], p. 540.  
**Kossowicz, A.**, Die Zersetzung und Haltbarmachung der Eier, p. 538.  
**Weinsierl, John and Veldee, M. V.**, A bacteriological method for determining manual pollution of milk, p. 543.  
**Will, H.**, Experimentelle Untersuchungen zur Methodik der biologischen Untersuchung von Brauwasser. Verhalten der Organismen des gleichen Wassers gegenüber der Würze verschiedener Brauereien, p. 535.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung **G u s t a v F i s c h e r** in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 25. November 1916.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.



*Nachdruck verboten.*

Über im Jahre 1915 erschienene bemerkenswerte Mitteilungen auf dem Gebiete der tierischen und pflanzlichen Feinde der Kartoffelpflanze.

Von Dr. Leopold Fulmek und A. Stift (Wien).

A. Tierische Feinde.

a) Nematoden.

Bessey und Byars<sup>1)</sup> bringen eine mit guten Abbildungen versehene populäre Abhandlung über die durch das Wurzelälchen (*Heterodera radiculicola*) verursachten Wurzelgallen an den verschiedensten Pflanzen (eine Liste der meist anfälligen und der am häufigsten verschonten Kulturpflanzen ist beigegeben), die besonders in den Südstaaten Nordamerikas stark verbreitet sind, in den nördlichen Gegenden sich aber hauptsächlich auf die Gewächshauskulturen beschränken. Die Entwicklungsdauer des Älchens währt 4—5 Wochen; jedes Weibchen legt über 500 Eier. Die Verbreitung erfolgt in leichten, sandigen, hinlänglich feuchten und warmen Böden am raschesten; auf die Verschleppungsmöglichkeiten durch infizierte Pflanzen, fließendes Wasser, an Geräten anhaftende Erde, Mensch und Tier wird ausdrücklich hingewiesen. Die Abwehr erfolgt im Gewächshaus durch Dampfersterilisation unter hohem Druck, durch Verwendung von sterilisierter Erde und gesunden Pflanzen, im Freiland durch Überdüngung und Bodenbearbeitung, durch Anbau nicht anfälliger Pflanzen unter gleichzeitiger Unkrautvertilgung durch mindestens 3 Jahre; als geeignete Fruchtfolge nach Nematodenverseuchung werden Winterkorn, danach Bohnen oder Bettlerkraut (*Desmodium tortuosum*) empfohlen. Aushungern der Nematoden durch Freihalten des Bodens von jeglicher Vegetation durch mindestens 2 Jahre ist zwar wirksam, aber selten praktisch durchführbar. Laidlaw<sup>2)</sup> bespricht kurz die Anatomie und Entwicklungsgeschichte pflanzenschädigender Nematoden und speziell von *Heterodera radiculicola* auf Kartoffel. Versuche mit Bekämpfungs- und Vorbeugemitteln scheinen Erfolg versprechend zu sein, sind aber noch nicht ausführlich genug bekannt. Zimmermann<sup>3)</sup> beobachtete das Auftreten von Nematoden (*Heterodera spec.*) auf Kartoffelpflanzungen, deren Stauden klein und im Wachstum zurückblieben, wobei auch der Knollenansatz ein kümmerlicher war. Das Saatgut war einwandfrei und stammte von gesunden Schlägen aus anderer Gegend. Die befallene Fläche lieferte höchstens 20 % des früheren Ertrages. Versuchsweise wurde im Frühjahr eine im Vorjahre erkrankte Fläche mit Kalkstaub gekalkt, und diese Stelle zeigte dann meist kräftigere Stauden.

<sup>1)</sup> U. S. Depart. of Agr. Farmers Bull. 1915. No. 648.

<sup>2)</sup> Journ. Dep. Agr. Victoria. 1914. No. 6. p. 370; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 341.

<sup>3)</sup> Mitt. d. Landw. Versuchs-Stat. Rostock. 1915. p. 79.

## b) Schnecken und Insekten allgemein.

Schoyen<sup>1)</sup> berichtet über den Fraß einer kleinen, der gewöhnlichen grauen Ackerschnecke (*Limax agrestis*) nahestehenden Schneckenart in Kartoffelknollen, sowie über das Anstechen der Blätter durch Wanzen.

Webster<sup>2)</sup> bringt einen kurzen Bericht nebst eigenen Beobachtungen über die wichtigsten der Kartoffel schädlichen Insekten in Iowa; erwähnt sind: der Koloradokäfer, der Kartoffelerdfloh (*Epitrix cucumeris*), der gestreifte, der graue und der schwarze Pflasterkäfer, der „Tabakwurm“, der „Tomatenwurm“, der Kohlminierer, die veränderliche Eulendraupe, die Baumwollendraupe (*Prodenia ornithogalli*), der Apfelblatthüpfer, die Kartoffelblattlaus (*Macrosiphum solanifolii*), die düstere Blattwanze (*Adelphocoris rapidus*), die gefleckte Wanze (*Lygus pratensis*), der Kartoffelstengelbohrer und die Engerlinge.

## c) Lepidoptera.

Ein sehr unangenehmer Schädling waren die Raupen der Wintersaateule (*Agrotis segetum* Schiff.), die viele Kartoffelfelder befallen und arg verwüstet haben. Nach der Beobachtung von Lüstner<sup>3)</sup> waren die an der Kartoffel erzeugten Wunden so tief und umfangreich, daß jene an Wert erheblich einbüßten und für Speisezwecke vielfach keine Verwendung finden konnten. Der Fraß war nicht nur ein äußerer, sondern meist auch ein innerer. Vielfach fanden sich tiefe Höhlungen vor, die nur noch von der schon vertrockneten und schwarz gefärbten Schale überdeckt waren. Zur Bekämpfung der Erdruppen, die dringend notwendig ist, empfiehlt sich folgendes: 1. Umpflügen und Neubestellung der Felder, wobei die an die Oberfläche gekommenen Raupen und Puppen zu sammeln sind. 2. Einsammeln der Raupen überhaupt durch Schulkinder. 3. Eintreiben von Hühnern in die befallenen Felder. 4. Fangen der Schmetterlinge mit Fanglampen oder Ködern. Das massenhafte Auftreten der Raupen auf Kartoffel- (und auch Runkelrüben-) feldern ist eine abnorme Erscheinung, die möglicherweise mit der langen Dürre des Frühjahrs und Sommers 1914 in ursächlichem Zusammenhange steht. Durch diese Dürre haben vielleicht die Raupen andere Nährpflanzen verloren und sind dadurch gezwungen worden, die Kartoffelpflanzen anzugehen. Hervorzuheben ist, daß in einem Falle die Erdruppen nach einem starken Regen von den Kartoffeläckern fast vollständig verschwunden sind. Nach den Beobachtungen von Steinhausen<sup>4)</sup> ist durch die Raupen der Wintersaateule ein Frühkartoffelschlag teilweise vernichtet worden. Teilweise waren die Büschel bis zu 80 Proz. vernichtet. Bemerkenswert ist, daß sich die Raupen nicht mit dem Wurzelfraß begnügten, sondern hauptsächlich die saftigeren Stengel angriffen, die sie dort, wo jene mit der Erde angehäufelt waren, durchbissen, um sogleich auf die folgende Pflanze überzugehen. Wahrscheinlich hinderte der infolge der Dürre sehr harte Boden ein tieferes Eindringen der Raupen bis an die Knollen. Was die Bekämpfung

<sup>1)</sup> Beretn. om skadeinsekter og plantesygdommer i land- og havebruket 1914. Kristiania 1915. p. 47.

<sup>2)</sup> Iowa Stat. Bull. 1915. 155. p. 359; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 33. 1915. p. 352.

<sup>3)</sup> Amtsbl. d. Landwirtschafts-Kammer f. d. Regierungsbez. Wiesbaden. Jg. 97. 1915. p. 277.

<sup>4)</sup> Illustr. Landw. Zeitg. Jg. 35. 1915. p. 464.

anbetrifft, so ist das Einsammeln hinter dem Pflug zu umständlich und nur ausnahmsweise durchführbar. Krähen und Stare sind nützlich. Das Eintreiben von Hühnern dürfte keinen allzugroßen Erfolg haben, da die Raupen versteckt unter der Erdoberfläche liegen und die Hühner auch nur ungern größere Raupen fressen. Da auch die Anwendung insektentötender Pilze zur Erzeugung einer Raupenseuche nach den Ergebnissen der in dieser Richtung bisher angestellten Versuche keine Aussicht auf Erfolg hat, so bleibt zur Durchführung einer Massenvertilgung auf dem Felde nur die Aufstellung von Fanglaternen zum Fang der Schmetterlinge übrig. Eventuell tut auch eine alte Zementtonne dieselben Dienste, in deren Seitenwände man einige größere Löcher schneidet, während man die Innenwand mit Teer oder einem flüssig bleibenden Leim bestreicht und auf den Boden der Tonne eine von oben her durch geeignete Bedeckung vor Regen geschützte Lampe stellt. Vielleicht gelingt es auch durch die Bestellungsarbeiten, den Schädling im Puppenstadium zu vernichten, da die Puppe (er verpuppt sich erst im Frühjahr) bei Störungen in der Ruhe eingeht. Auch Müller-Lenhardt<sup>1)</sup> konnte auf manchen Kartoffelfeldern eine starke Beschädigung derselben durch die Erdraupen beobachten. Mit diesen Schädlingen zugleich traten auch die Raupen der Kreuzkraut-Ackereule (*Agrotis exclamatoris*) auf.

#### d) Coleoptera.

Nach Zimmermann<sup>2)</sup> hatten sich Engerlinge fast vollständig in die Knollen hineingebohrt und dieselben zum größten Teil ausgefressen. Der Schaden betrug gegen 10 Proz. und würde größer geworden sein, wenn die Engerlinge nicht übersättigt gewesen wären. An ihrer Vertilgung beteiligten sich eifrig Krähen, Stare und Maulwürfe.

Großes Aufsehen erregte in allen beteiligten Kreisen das im Jahre 1914 am 9. Juli bekannt gewordene Auftreten des Koloradokäfers auf einem etwa 1 ha großen, der Stadt Stade gehörigen, an einzelne Pächter abgegebenen Felde. Schwartz<sup>3)</sup> erinnert nun an dieses Ereignis, das angesichts des neuen Kartoffelbaues zur Vorsicht mahnt und beschreibt in Kürze die im Vorjahre unter militärischer Assistenz durchgeführten Abwehrarbeiten. Das verseuchte Gebiet wurde sorgfältig abgesucht, die Tiere und Eier abgetötet, die Kartoffelpflanzen ausgerissen, in Kalkgruben aufgeschichtet, mit Benzol begossen und mit Erde zugedeckt. Der Boden des Feldes wurde durch Pflügen und Eggen gelockert, nochmals abgesucht und schließlich mit Rohbenzol (4 l auf 1 qm) durchtränkt. Das befallene Feld wurde auch mit einem 25 cm tiefen und an der Sohle ebenso breiten Graben umgeben, dessen äußere steile Böschung mit Benzol, zwecks Verhinderung der Auswanderung des Käfers, begossen wurde. Die angrenzenden Äcker wurden als seuchenverdächtig erklärt und dementsprechend behandelt. Im ganzen fielen etwa 4 ha der Vernichtung anheim. In den beiden ersten Tagen der Bekämpfungsarbeiten wurden ungefähr 300 000 Käfer und Larven gesammelt; nach dem 21. Juli wurde kein Schädling mehr gefunden. Da die Übersehung einiger Käfer und deren gelungene Überwinterung im Bereich der Möglichkeit lag, so wurde das verseuchte Gelände von der Stadt Stade selbst unter Regierungsaufsicht in eigene Bewirtschaftung genommen und mit Getreide und Kartoffeln (diese zwischen dem Getreide in Streifen, zwecks Anlockung etwa

<sup>1)</sup> Sächs. Landw. Zeitg. Jg. 63. p. 547.

<sup>2)</sup> Mitt. d. Landw. Versuchs-Stat. Rostock. 1915. p. 80.

<sup>3)</sup> Mitt. d. Deutsch. Landw. Gesellsch. Jg. 30. 1915. p. 364.

noch vorhandener Käfer) bebaut. Damit wurde alles getan, was im Bereich der Möglichkeit lag. Bei genügender Aufmerksamkeit dürfte es auch in künftigen Einschleppungsfällen (die kaum zu vermeiden sind) gelingen, des Schädling's Herr zu werden. Zum Schluß gibt S c h w a r t z eine Beschreibung des Koloradokäfers, der Eier und der Puppen. S c h a b l o w s k i <sup>1)</sup> berichtet ebenfalls über das Auftreten und die Bekämpfung des Koloradokäfers im Jahre 1914 in der Feldmark Stade und gewinnen seine Ausführungen um so mehr an Interesse, als er Mitglied der ständigen Kommission zur Überwachung und Ausführung der Vernichtungsarbeiten war. Der Käfer wurde von dem Pächter am 9. Juli zuerst in großer Zahl gefunden, S c h a b l o w s k i fand am 10. Juli bei Besichtigung der Felder sehr große Mengen von Larven und Käfer, an die zuständigen Behörden wurde schleunigst die Anzeige erstattet und noch an demselben Tage erschien eine von der Kgl. Regierung berufene Kommission, um den Umfang des Schadens festzustellen und die zunächst erforderlichen Maßnahmen zu beraten. Zur Hilfeleistung bei der Bekämpfung wurden 200 Soldaten herangezogen. Am 20. Juli waren die Bekämpfungsarbeiten zu Ende. Über die Größe des wirklich infizierten Gebietes, die nur 1 ha betrug, wurden in den Tageszeitungen ganz übertriebene Angaben (man schrieb von „vielen Gegenden“ und „weiten Feldern“ Deutschlands) gemacht, die nur zum Teil richtig gestellt werden konnten. Was die Einwanderung des Schädling's anbetrifft, so muß angenommen werden, daß schon im Jahre 1913 einzelne Stellen befallen waren. In welcher Weise die Einschleppung erfolgte, ließ sich bisher noch nicht feststellen und sind alle in der Tagespresse gemachten Angaben falsch. Nach den Feststellungen von v o n B r u n n und A l f k e n erwies sich der Schädling als *Leptinotarsa decemlineata* Say. Da im Stader Gebiete nur einige Puppen gefunden wurden, so wurden vier Zuchtgefäße mit möglichst großen Larven besetzt, deren Entwicklung S c h a b l o w s k i genau studiert hat. Die Beobachtung der Felder wurde auch im Jahre 1915 fortgesetzt, da die Frage, ob die Vernichtung tatsächlich eine endgültige war, noch eine offene ist. Zum Schluß erwähnt S c h a b l o w s k i die Schrift S a n d e r s „Deutschlands Kampf mit dem Koloradokäfer“ (siehe unten), die in einigen Punkten der Richtigstellung bedürftig ist. In einem ergänzenden Aufsatz gibt dann S c h a b l o w s k i <sup>2)</sup> die Flurkarte des im Jahre 1914 befallenen Gebietes, aus der zu ersehen ist, daß die eigentlich befallene Fläche klein genannt werden kann. Die im Jahre 1915 aufgetretenen Käfer, im ganzen vier, konnten unschädlich gemacht werden, wie auch sofort die entsprechenden Bekämpfungsmaßnahmen eingeleitet wurden. R e h <sup>3)</sup> berichtet ebenfalls, und zwar auf Grund von Zeitungsberichten, über das Auftreten der Kartoffelkäfer bei Stade, bzw. über die durchgeführten Bekämpfungsarbeiten. Was die Einschleppung der Käfer anbetrifft, so sind die Möglichkeiten hierzu unzählige, denn jedes Schiff aus Nordamerika kann irgendwie in seiner Ladung lebende Käfer mitbringen. Viel wichtiger als die doch unmögliche Verhinderung der Einschleppung ist es daher, möglichst bald die eingeschleppten Käfer zu entdecken und zu bekämpfen. Dies kann durch möglichst zahlreiche lokale Pflanzenschutzstationen und möglichste Aufklärung der acker- und gartenbautreibenden Bevölkerung geschehen, woran es aber noch sehr mangelt. Die Bekämpfung hat sich durchaus nach den Erfahrungen der früheren Ein-

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Jg. 25. 1915. p. 193.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Jg. 25. 1915. p. 398.

<sup>3)</sup> Zeitschr. f. angew. Entomol. Bd. 2. 1915. p. 213.

schleppungen, die durch Gerstäcker so erfolgreich bekämpft wurden, gerichtet, und ist mit aller nur wünschenswerter Tatkraft und Sachkenntnis erfolgt. Bedauerlicherweise wurden keine Entomologen beigezogen. (Reh gibt die Kosten der ganzen Bekämpfung mit etwa 60 000 *M* an, wozu noch etwa 6000 *M* Schadenersatz an die Besitzer der vernichteten Felder gekommen sind. Nach den Angaben von Schabrowski (s. o.) betrugen diese Kosten aber nur insgesamt 25 340,70 *M*, während sich die Flurentscheidungen für vernichtete Gemüse auf 6512,32 *M* stellten.)

Thiele<sup>1)</sup> schildert anlässlich des Auftretens des Koloradokäfers in der Nähe der Stadt Stade in Kürze die Geschichte dieses Insektes (zuerst 1823 von Say beschrieben) und gibt dann die Biologie des Käfers, der in der Zerstörung des Kartoffellaubes Außerordentliches zu vollbringen vermag und überhaupt eine außerordentliche Fähigkeit, was Anpassung der Nahrung anbetrifft, besitzt. Die Bekämpfungsmaßregeln kann man in drei Gruppen gliedern: 1. Solche, die die Vermehrung der Feinde des Käfers begünstigen, 2. Mechanische Mittel und 3. Chemische Mittel. Zu 1 gehört eine Raupenfliege (*Tachina*), dann Larven gewisser Marienkäferchen, ferner Laufkäfer, Schreitwanzen, Lurche, Krähen, Enten, Hühner und schließlich der zu der Ordnung der Milben gehörende Parasit *Uropoda americana*. Zu den mechanischen Vertilgungsmitteln gehört in erster Linie das Ablesen mit der Hand, das aber außerordentlich hoch kommt und auch Ausschläge an den Fingern, infolge zeitweiliger Giftigkeit der Käfer und Larven, hervorrufen soll, eine Erscheinung, die man aber bisher in Deutschland nicht beobachtet hat. Von den verschiedenen chemischen Mitteln, die man in Anwendung gebracht hat, hat sich das Schweinfurter-Grün in Amerika am besten bewährt; infolge der Giftigkeit ist aber die Benutzung nicht zu empfehlen. Zur Vernichtung der im Boden befindlichen Puppen können nur solche chemische Mittel in Frage kommen, die nicht durch unmittelbare Berührung, sondern durch Entwicklung von tödlichen, alle Hohlräume des Bodens erfüllenden Dämpfen wirken. In dieser Beziehung wirkt Rohbenzol auf Käfer, Larven und Puppen unbedingt tödlich. Die seinerzeit von Maerker behauptete Beeinträchtigung der Vegetationskraft des mit Rohbenzol getränkten Bodens wurde durch in letzter Zeit durchgeführte Versuche nicht bestätigt. Gleich tödlich wie Rohbenzol wirkt Petroleum, das allerdings die Vegetation etwas schädigt. Schließlich verweist Thiele auf die in Stade amtsweise angeordneten und durchgeführten Maßnahmen zur Bekämpfung des Schädlings (siehe oben). Einige Zoologen sehen in dem Käfer keinen gefährlichen Feind und sind der Ansicht, daß ein ungünstiger Winter den Käfer besser beseitigt als das schneidigste Vorgehen mit Benzol. Demgegenüber bemerkt Thiele, daß man über das Fortkommen des Käfers in der ganzen Vegetationsperiode und im Winter sehr wenig weiß, so daß leichtfertige Vermutungen sehr teuer zu stehen kommen könnten. Jetzt handelt es sich darum, den Schädling energisch zu bekämpfen und später mag die Wissenschaft weiter forschen, ob die Kartoffelkäfer für Deutschland so gefährlich werden können, wie gegenwärtig angenommen werden muß. Eine Mitteilung über die Wesensart und die Lebensweise des Kartoffelkäfers liegt auch von Wahl<sup>2)</sup> vor, unter Hervorhebung derjenigen amtlichen Verfügungen, die in Österreich gegen die Einschleppung dieses Schädlings getroffen worden

<sup>1)</sup> Fühlings Landw. Zeitg. Jg. 64. 1915. p. 408.

<sup>2)</sup> Wien. Landw. Zeitg. Jg. 65. 1915. p. 569.

sind. Zur Bekämpfung wurden seinerzeit ähnliche Bekämpfungsmaßregeln empfohlen, wie solche im Jahre 1914 bei Stade in Anwendung gekommen sind. In Europa ist es, dank den rechtzeitig ergriffenen Abwehrmaßregeln, nie zu so ausgedehnten Schädigungen gekommen wie in Amerika, wo stellenweise der Kartoffelbau zeitweise gänzlich eingestellt werden und wo man auch, da es sich um ausgedehnte Ländereien handelte, zu anderen Abwehrmitteln als in Europa greifen mußte. Die dort übliche Verwendung von Gift-(Arsen-)präparaten zur Vergiftung des Kartoffelkrautes erscheint in Europa bei dem lokalen Auftreten des Schädling nicht notwendig, der durch die in Stade angewendeten Ausrottungsverfahren gewiß sicherer und schneller bekämpft werden kann.

v o n T u b e u f <sup>1)</sup> gibt anlässlich des Falles von Stade zu bedenken, daß die Möglichkeit der Einschleppung besteht, obwohl schon seit dem Jahre 1875 die Kartoffeleinfuhr aus Amerika nach Deutschland verboten ist und zwar ständig durch Schiffsladungen mit Obst und anderen Objekten, sowohl aus dem Osten wie auch aus dem Westen Nordamerikas, wohin sich das Tier gleichfalls verbreitet hat. Ferner weist v o n T u b e u f darauf hin, daß der Koloradokäfer in neuester Zeit ein sehr beliebtes Objekt zum Studium von Vererbungsfragen bildet, so daß man in manchen Instituten Nordamerikas ganze Glashäuser voll von Zuchtkästen mit diesem Schädling finden kann. Es ist daher auch zu warnen, daß nicht solche Zucht- oder Demonstrationsversuche zu Infektionsherden werden, wie es früher schon mit der Reblaus oder in Amerika mit dem Schwammspinner der Fall war.

Das Auftreten des Koloradokäfers hat S a n d e r Veranlassung zur Veröffentlichung eines Büchleins „Deutschlands Kampf mit dem Kartoffelkäfer“ (M. Gladbach, 1914, Volksvereins-Verlag) gegeben, in dem das erste Auftreten des Schädling in Europa im Jahre 1877 (Mülheim a. Rh.) bis zum jüngsten Auftreten in Stade im Jahre 1914, mit Hervorhebung der angewendeten Bekämpfungsmaßregeln, geschildert wird. Zum Schlusse wird der Zuversicht Ausdruck gegeben, daß nach den bisherigen Erfahrungen eine erfolgreiche Bekämpfung verbürgt erscheint. Nach der Mitteilung des Ministeriums für Landwirtschaft, Domänen und Forsten<sup>2)</sup> sind in der Feldmark der Stadt Stade auf dem im Jahre 1914 von dem Kartoffelkäfer befallenen Gelände am 16. Juni 1915 drei Käfer und einige Eierablagen gefunden worden. Es wurden sofort die notwendigen Gegenmaßregeln ergriffen.

G r i m m <sup>3)</sup> schildert auf Grund eigener Beobachtungen den amerikanischen Kartoffelbau und bespricht am Schluß das Auftreten der pflanzlichen und tierischen Feinde der Kartoffelpflanze. An erster Stelle der tierischen Schädlinge steht der Koloradokäfer, der unermeßlichen Schaden anrichtet und den Kartoffelbau geradezu in Frage stellt. Zu seiner Bekämpfung ist die Bespritzung der Kartoffelpflanzen mit einer Lösung von Schweinfurter-Grün ( $\frac{1}{2}$  Pfund des Giftes auf 40 Gallonen [1 Gall. = 3,78 l] Wasser) das einzige Rettungsmittel, das oft dreimal angewendet werden muß.

Als Gesamtergebnis der im Jahre 1914 zur Bekämpfung des Koloradokäfers ausgeführten Feldversuche bei Tidewater in Virginia U. S. A. berichtet S m i t h <sup>4)</sup>, daß für größere Kartoffelbaubetriebe (5 acre = 2 ha oder mehr)

<sup>1)</sup> Naturwiss. Zeitschr. f. Forst- u. Landw. Jg. 13. 1915. p. 41.

<sup>2)</sup> Illustr. Landw. Zeitg. Jg. 35. 1915. p. 344.

<sup>3)</sup> Deutsche Landw. Presse. Jg. 42. 1915. p. 345.

<sup>4)</sup> Virginia Truck. Stat. Bull. 1915. No. 14. p. 315; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 33. p. 358.

die mit Arsen vergiftete Bordeauxbrühe (4—6 Pfund Bleiarsenat oder 1 Pfund Pariser-Grün auf 50 Gall.) (1 Pfund = 453 g, 1 Gall. = 3,78 l) bisher unübertroffen hinsichtlich der Insektizidwirkung und Ökonomie dasteht. Die besten Erfolge für die Verhältnisse von Tidewater sind zurzeit durch eine erstmalige Bestäubung mit Pariser-Grün und Kalkstaub zu erreichen, wann die grünen Schossen sich zeigen und eine nachfolgende Bespritzung zurzeit, wann die Pflanzen 4—8 inch. (10—20 cm) hoch sind, mit der eingangs erwähnten Mischung; die Bespritzungen sollten mindestens alle 10 Tage wiederholt und bis eine Woche vor der Ernte ausgeführt werden.

Heikertinger<sup>1)</sup> beschäftigte sich mit der Morphologie und Bionomie der Imago des Kartoffelerdflohs, *Psylliodes affinis* Payk., der, wenn er sicher auch ein spezifischer Kartoffelfeind ist, in seiner Bedeutung aber nicht im entferntesten an jene des Koloradokäfers heranreicht; immerhin ist er aber als ernster Kartoffelschädling bezeichnet worden und verdient daher die Beachtung der Landwirte. Bezüglich der eingehenden, durch Abbildungen unterstützten Studien muß auf die Arbeit selbst verwiesen werden, da ein kurzer Auszug unmöglich erscheint. Was die Schädlichkeit anbetrifft, so überfallen die überwinterten Käfer die junge Kartoffelpflanze, die jedoch den Angriff aushält, da über eine nahnhaftige Schädigung der Pflanze nichts bekannt geworden ist. Eine Erwähnung findet der Fraß am Blattwerk, der gewöhnlich im Juli noch auffälliger hervortritt und unter Umständen im Spätherbste zu einer vollständigen Vernichtung der Blätter führen kann. Dies sind jedoch nur Ausnahmefälle, da Heikertinger den durch die Imago angerichteten effektiven Ernteschaden nur für wenig bedeutend hält. Es wird nicht das Verkaufsprodukt direkt beschädigt, sondern lediglich die ganze Pflanze durch Zerstörung eines Teiles der Assimilationsfläche der Blätter als Organismus geschwächt und hierdurch der Zuwachs an Knollen vielleicht mittelbar nachteilig beeinflußt. *Psylliodes affinis* Payk. (auf *Solanum*, *Lycium* und *Hyoscyamus* vorkommend), ist die einzige mitteleuropäische Halticine, die auf die Kartoffel übergegangen und an ihr schädlich geworden ist. Wenn in der Literatur *Haltica oleacea*, *H. nemorum* und dgl. als Kartoffelschädlinge angeführt sind, so liegen unbedingt glatte Irrtümer, mit Fehlbestimmungen oder Verwechslungen vor, denn jede Art der heutigen Gattungen *Haltica*, *Phyllotreta* usw. ist ganz bestimmten Pflanzen angepaßt und greift *Solanaceen* normal nicht an. Über Krankheiten und natürliche Feinde des Kartoffelerdflohs fehlen Angaben. Sicher sind aber räuberische Käferlarven Feinde der Larve. Neueren Untersuchungen gemäß werden die Imagines der Halticinen von kleineren insektenfressenden Vögeln (vorwiegend Meisen und Sängern) eifrig gejagt. Eine eventuell notwendig werdende Abwehr in größerem Stile liegt in der Verwendung der Bordelaiser Brühe, ferner in den üblichen Erdflohfang- und Abwehrmethoden. Mit der gefürchteten *Leptinotarsa*, dem vielmals größeren Tier, das samt der Larve das ganze Leben mit Blattfraß großen Stils verbringt, wird der kleine bescheidene Erdfloh niemals in Parallele zu bringen sein.

Tölg<sup>2)</sup> hat sich mit der Morphologie und Biologie der Präimaginalstadien des Kartoffelerdflohes, *Psylliodes affinis* Payk., beschäftigt; diesbezüglich muß auf die Ausführungen im Original verwiesen werden.

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. angew. Entomol. Bd. 2. 1915. p. 10.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. angew. Entomol. Bd. 2. 1915. p. 1.

Was das Larvenleben anbetrifft, so dringt die eben ausgeschlüpfte Larve zumeist in zarte Wurzelfasern ein, in denen sie eine Zeitlang miniert. Der Fraßgang ist äußerst fein und es leben gewöhnlich dementsprechend mehrere Larven in einer Wurzelfaser. Größere Larven fressen auch außen an den Wurzeln. Die Fraßgänge ziehen sich aber gewöhnlich unmittelbar unter der Epidermis hin und gehen auch ziemlich tief an der Wurzel hinab. Die Larven sind auf Kartoffelfeldern, selbst bei starkem Befall durch den Käfer, nur sehr schwer zu finden, einerseits weil sie auf eine zu große Fläche verteilt sind und andererseits weil sie sehr lichtscheu sind, sich sehr schnell verkriechen und daher nicht leicht gefunden werden. Nach der Ansicht von Tölg scheint die Schädigung der Pflanze durch den Larvenfraß nur auf eine Schwächung der Pflanze hinauszugehen, denn seine mit Larven besetzten Kartoffelpflanzen gediehen ganz gut. Die Dauer des Larvenlebens erstreckt sich ungefähr auf einen Monat und die Puppenruhe dürfte, nach Beobachtungen an verwandten Formen zu schließen, inklusive des Vorpuppenstadiums vier Wochen dauern, womit auch das Erscheinen der zweiten Jahresgeneration anfangs August übereinstimmt.

Metcalf<sup>1)</sup> beschreibt und veranschaulicht eine Kistenfalle zum Fang der Erdflöhe auf Kartoffelfeldern. Die vorne offen, auf der Unter- und Hinterwand zum Durchstreifen der Pflanzen entsprechend weit ausgeschnittene Kiste von ca.  $2\frac{1}{2}$ —3 Fuß (75—90 cm) Ausmaß ist an den Innenseiten mit Raupenleim ausgestrichen. Um das Anstreifen und Beschmutzen des Kartoffellaubes an den geleimten Kistenwänden möglichst zu verhindern, ist von den Kanten der offenen Vorderseite zu dem Umfang der engeren Austrittsöffnung an der Kistenhinterwand trichterförmig eine Anzahl von Drähten gespannt. Diese Falle kann entweder an zwei Handhaben über die Pflanzenbuschreihen getragen oder auf zwei Rädern nach Art eines Schiebkarrens gefahren werden und ist an den beiden Vorderecken noch mit einem Paar Bandfedern versehen, um das Aufstreifen der Kiste auf dem Boden zu verhindern. Auf 1 acre (= 40 a) wurden mit dieser Falle 25 000 Erdflohkäfer gefangen und die kleine Blatthüpferzikade (*Empoasca mali*) wurde in einer Menge von 40 000 Stück auf 1 acre erbeutet. Vorteile dieser Falle sind ihre billige und für jedermann leichte Anfertigung.

#### e) Rhynchota.

Nach der Beobachtung von von Wahl und Müller<sup>2)</sup> zeigten sich verschiedene Wanzenarten, besonders *Lygus pratensis*, an den Kartoffelblättern in so großer Menge, daß das Laub wie zerschlitzt aussah. Ferner verursachten Blattläuse (*Siphonophora solani*) häufig Kräuselungen der Blätter, wodurch die Pflanzen ein gedrungenes Wachstum zeigten. Dutt<sup>3)</sup> bezeichnet ein Hemipter aus der Familie der Tingidae als den Urheber von neuartigen Schäden durch Anstechen und Saftaussaugen an Kartoffeln, welche in den Lagerräumen zweier Dörfer in Indien beobachtet worden sind.

<sup>1)</sup> Journ. of Econ. Entom. Vol. 8. 1915. p. 240. 1 Taf.

<sup>2)</sup> Ber. d. Hauptstelle f. Pflanzenschutz in Baden an d. Großh. landw. Versuchsanst. Augustenberg f. 1914. Stuttgart 1915. p. 31.

<sup>3)</sup> Agr. Journ. Bihar and Orissa (India). 1913. No. 2. p. 139. 1 Taf.; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 57.



**B. Pflanzliche Schädlinge.****a) Allgemeines und Jahresberichte.**

Baily<sup>1)</sup> bringt Notizen über verschiedene Kartoffelkrankheiten in Oregon; unter diesen sind die durch *Fusarium trichothecioides* und *F. coeruleum* verursachten Trockenfäulnisse und die von *F. orthoceras* hervorgerufene Gallertfäule an eingemieteten Kartoffeln erwähnt; auch Silberschorf, Frühfäule (*Alternaria solani*), *Verticillium*-Welkekrankheit, Schwammfäule und *Rhizoctonia violacea* sind genannt, sowie die Abwehrmittel angeführt.

Behrens<sup>2)</sup> bespricht vom Standpunkte der Saatgutenerkennung im Kartoffelbau das Aussehen, den Verlauf, die Ursache und die Bekämpfung einer Reihe von Kartoffelkrankheiten und zwar: die Schwarzbeinigkeit, Bakteriumringkrankheit, Blattrollkrankheit, Kräuselkrankheit, Barbarossakrankheit, Bukettkrankheit, Krautfäule (*Phytophthora infestans*), Trocken- oder Fusariumfäule der Knollen, Eisen- oder Buntfleckigkeit, den Schorf (verursacht durch *Spongospora solani*) und Kartoffelkrebs. Die Ausführungen erscheinen zur raschen Orientierung auf diesem Gebiete sehr geeignet.

Grimm<sup>3)</sup> schildert auf Grund eigener Erfahrungen den amerikanischen Kartoffelbau und bespricht am Schlusse das Auftreten der pflanzlichen und tierischen Feinde der Kartoffelpflanze. Die in den Vereinigten Staaten auftretenden Krankheiten äußern sich zum Teil unangenehmer als in Europa. Auf Grund zehnjähriger Beobachtungen hat sich gezeigt, daß eine Bespritzung der Kartoffelpflanzen mit Bordeaux-Mischung zur Bekämpfung der Krautfäule (late blight) in den feuchtwarmen Staaten unerlässlich ist. Da man diese Maßregel aber nicht sorgfältig ausgeführt oder ganz unterlassen hat, so hat man kolossale Verluste an Kartoffeln erlitten. Sehr gefürchtet ist der Schorf (scab). Während man den gemeinen Schorf durch Behandlung des Saatgutes mit Formaldehyd bekämpft, hat diese Behandlung beim braunroten Schorf (russet) keine Wirkung. In den letzten Jahren ist aus Europa über Kanada der pulverige Schorf (powdery scab) eingeschleppt worden.

Hennig<sup>4)</sup> gibt eine kurze Übersicht über die wichtigsten ansteckenden Kartoffelkrankheiten in Schweden. Die vielfach als Sortenentartung angesprochenen Ernterückgänge im Kartoffelbau sind nur selten als tatsächliche, schrittweise Degeneration einer bestimmten Kartoffelsorte aufzufassen, sondern in den meisten Fällen auf Krankheiten zurückzuführen. So hat zum Beispiel Magnum bonum in den Jahren 1905 und 1906 in Westfalen nur sehr schlechte Ernten gebracht, gegensätzlich dazu aber im übrigen Deutschland sehr gut befriedigt. Der jährliche Verlust durch Krankheiten wird auf 20 Proz. eingeschätzt, wovon 10 Proz. beim Einwintern zugrunde gehen. Die durch *Hypochnus solani* verursachte Filzkrankheit, *Fusarium*schimmel auf den Knollen, *Phytophthora infestans*, *Synchytrium endobioticum*, die Ringbakteriose durch *Bacterium solanacearum*, *Spongospora scabies* und die Blattrollkrankheit werden kurz charakterisiert und durch Abbildungen erläutert, die durch Bakterien verursachte Weichfäule, die mit *Bacillus*

<sup>1)</sup> Oregon Stat. Bien. Crop Pest and Hort. Rept. 1913/14. p. 245; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 642.

<sup>2)</sup> Jahrb. d. Deutsch. Landw.-Gesellsch. Bd. 30. 1915. p. 48.

<sup>3)</sup> Deutsch. Landw. Presse. Jg. 42. 1915. p. 345.

<sup>4)</sup> Trädgard. (Stockholm) 1915. No. 3.

*phytophthorus* am gewöhnlichsten verbundene Stengelbakteriose und der dem Pilz *Actinomyces scabies* zugeschriebene Kartoffelschorf ohne Abbildung besprochen und im allgemeinen Auswahl von gesundem Saatgut zur Vermeidung der Krankheiten bzw. Fruchtwechsel auf verseuchten Böden (nach *Hypochnus*, Ringbakteriose z. B.) empfohlen; gegen *Phytophthora* hilft 2 Proz. Bordeauxbrühe im Juli—August und trockenes, frostsicheres ( $+8^{\circ}\text{C}$ ) Einmieten unter Stroh und Erdeindeckung; der im Jahre 1912 in Schweden (Södermanland) beobachtete Kartoffelkrebs wurde mit Staatshilfe wieder ausgerottet; Knollenschorf soll durch Mergel, Asche, Kali, Chilisalpeter und Stalldüngung begünstigt werden (Schorfabfall ist zu verbrennen und nicht zu kompostieren); Phosphorsäure und Kali sollen den Boden widerstandsfähiger gegen die Weichfäule machen, während Kalk dieselbe befördert. Schalen von Kartoffeln, die mit *Spongospora scabies* befallen sind, sollen erst nach der Desinfektion durch Kochen auf den Düngerhaufen kommen; Beizen des Saatgutes mit 0,2 Proz. Formalin, 3 Stunden lang, ist als Abwehrmittel gegen diese Krankheit vorgeschlagen worden. Die echte Blattrollkrankheit, deren Ursache noch nicht klar ermittelt ist, scheint vererbbar zu sein; in den Rheinprovinzen hat besonders *Magnum bonum* unter der Blattrollkrankheit zu leiden, während die Sorte *Industrie* sich gut verhielt.

In der Übersicht über die Krankheiten der Feldgewächse im Jahre 1914 berichten *Lind*, *Rostrup*, und *Ravn Kolpin*<sup>1)</sup> bezüglich der *Phytophthora infestans*, daß diese Krankheit erst Ende August bei reichlichem Nachttau und starker Taghitze auffallend überhand nahm; *Magnum bonum* wurde zuerst angegriffen, *Up to date* erst später; Bordeauxbespritzung erhielt das Laub der Kartoffel einen Monat länger grün und ergab eine bedeutende Mehrausbeute. *Bac. phytophthorus* war bei der Sorte *Richters Imperator* auffällig, seltener bei *Up to date* u. a. bemerkbar; gegen diese Stengelbakteriose der Kartoffel ergab Beizen in 1 Proz. Kupfervitriollösung, 1 Minute lang, völlig gesunde Pflanzen. Saatgutauswahl von nur gesunder Herkunft ist zu empfehlen. Für Kartoffelschorf (*Actinomyces scabies*) scheinen Frühkartoffeln, z. B. Julikartoffeln, sehr anfällig zu sein, sodann in absteigender Reihe die Sorten: *Up to date*, *Richters Imperator*, am wenigsten *Magnum bonum*. *Spongospora subterranea* und *Synchytrium endobioticum* sind trotz fleißiger Untersuchungen bisher in Dänemark noch nicht nachgewiesen worden.

*Molina*<sup>2)</sup> gibt eine kurze Besprechung einiger durch Bakterien und durch Pilze verursachter Kartoffel- und Tomatenkrankheiten nebst Angabe der empfohlenen Vorbeuge- und Bekämpfungsmittel.

Betreffend die Kartoffelquarantäne und die amerikanische Kartoffelindustrie schreibt *Orton*<sup>3)</sup>, daß die jährliche Einbuße an Kartoffeln durch Knollenfäule und ähnliche Krankheiten zusammen mit den durch die auf dem Felde auftretenden Krankheiten bedingten Verlusten in den Vereinigten Staaten von Amerika auf 60 Millionen Dollars geschätzt werden. *Phytophthora infestans*, vermutlich aus Südamerika stammend, wurde in den Jahren 1830 bis 1842 nach Europa und Nordamerika einge-

<sup>1)</sup> Oversigt over Landbrugsplanternes Sygdomme i 1914. 94. Beretning fra Statens forsogsvirksomhed i Plantekultur. Kopenhagen 1915. p. 267.

<sup>2)</sup> Progr. Agr. et Vit. Ed. l'Estcentr. T. 35. 1914. p. 813; durch *Experim. Stat. Rec.* Vol. 33. 1915. p. 147.

<sup>3)</sup> Bull. U. S. Dep. of Agric. 1914. No. 81.

schleppt und wird trotz fleißigen Spritzens mit Kupferkalkbrühe nicht auszurotten sein. Die durch den *Bac. phytophthorus* und Verwandte bedingte Schwarzbeinigkeit der Kartoffel wurde aus Europa nach Amerika eingeschleppt und hat besonders in den Südstaaten größere Schadensbedeutung erlangt (in Virginia 10 bis 75 Proz. Ernteverlust). *Spondylocladium atrovirens* konnte in Amerika größere Bedeutung erlangen als in Europa. Gegen *Synchytrium endobioticum* wurden durch den Quarantäne-Erlaß vom 20. September 1912 umfassende Einfuhrbeschränkungen vorgesehen; ebenso erscheint eine Einfuhrkontrolle wegen *Spongospora subterranea* vollauf gerechtfertigt. Es werden die Bestimmungen hinsichtlich der Kartoffeleinfuhr nach den Vereinigten Staaten von Amerika eingehend erörtert und schließlich auf das dem heimischen Kartoffelbau so unzuträgliche Schwanken zwischen Ein- und Ausfuhr von Kartoffeln in den letzten 12 Jahren hingewiesen und als Mittel für die Stabilisierung des heimischen Marktes Hebung der Schweinezucht, sowie ausgedehntere industrielle Verwertung der Kartoffel im Inlande (Stärke, Alkohol, Dextrin, Kartoffeltrocknung usw.) genannt.

Rees<sup>1)</sup> gibt eine populäre Beschreibung von *Rhizoctonia*, Kartoffelwelke oder Trockenfäule, Schwarzbeinigkeit, Silberschorf, Trockenschorf, Kartoffelschorf, innerlicher Braunfleckigkeit und Innenrissen der Kartoffelknollen nebst Anweisungen zur Bekämpfung.

In einer Arbeit „Über die wichtigsten Kartoffelkrankheiten und ihre Bekämpfung“ weist Schander<sup>2)</sup> darauf hin, daß in den letzten Jahrzehnten eine außerordentliche Steigerung der Kartoffelerträge durch bessere Bodenkultur, Düngung und Züchtung widerstandsfähiger, ertrag- und stärkerer Sorten erreicht worden ist, daß aber eine noch wesentlichere Steigerung und vor allen Dingen eine Ausgleichung der Ernten in den einzelnen Jahren durch eine rationelle Bekämpfung der Kartoffelkrankheiten erzielt werden kann. Unter besonderer Berücksichtigung der praktischen Verhältnisse werden die folgenden Krankheiten behandelt: *Phytophthora*-fäule, Blattfleckkrankheit, Blattrollkrankheit und verwandte Erscheinungen, Fußkrankheiten mit besonderer Berücksichtigung der Schwarzbeinigkeit, Bakterienringfäule, Bakterienringkrankheit, Kartoffelkrebs, Schorf und die Kartoffelfäulen unter besonderer Berücksichtigung zweckmäßiger Aufbewahrung der Kartoffeln. Am Schluß der Abhandlung, der zahlreiche Abbildungen beigegeben sind, gibt Schander Richtlinien für die Heranzucht gesunder Kartoffelkulturen und die Vermeidung und Bekämpfung der wichtigsten Kartoffelkrankheiten, die für die Kartoffelbauer und -züchter von besonderem Interesse sind.

Schlumberger<sup>3)</sup> gibt in einer, durch eine farbige Tafel unterstützten Zusammenstellung der Praxis eine in knappen Worten gehaltene Darstellung der wichtigsten Krankheiten der Kartoffelknolle und ihrer Bekämpfung. Bezüglich der Bekämpfung wird bemerkt, daß diese, wie bei allen Infektionskrankheiten, auch hier fast ausschließlich in vorbeugenden Maßnahmen besteht, durch die einem weiteren Umsichgreifen des Krankheitserregers der Boden entzogen wird. Behandelt werden die folgenden Krankheiten: *Phytophthora*-fäule, Bakterienfäule, *Fusarium* knollen-

<sup>1)</sup> Washingt. Stat. West. Wash. Stat. Mo. Bull. 1914. No. 6. p. 9 u. No. 7. p. 14; durch Experim. Stat. Rec. Bd. 33. 1915. p. 52.

<sup>2)</sup> Deutsche Landw. Presse. Jg. 42. 1915. p. 484.

<sup>3)</sup> Ebenda. p. 369.

fäule, Verticilliose (Welkekrankheit) und Bakterienringfäule, hohle Knollen, Silberflecken, Erdräupenfraß, Pfropfenkrankheit (Kringerigheid), Bunt- und Eisenfleckigkeit, Blauviolette Flecken, Milbenfraß, Spongospora schorf, Kartoffelkrebs, Rhizoctonia pocken und Rhizoctonia fäule.

Betreffend den gewöhnlichen Kartoffelschorf, dessen Ursachen noch nicht recht klargestellt sind, verweist Schöyen<sup>1)</sup> auf die Erfahrung, daß zuweilen von schorfigem Saatgut eine gesunde Ernte und umgekehrt von gesundem Saatgut schorfige Kartoffeln, je nach den Bodenverhältnissen, erhalten werden und daß als Hauptergebnis der bisherigen Versuche der Befund anzusehen ist, daß die Krankheit fast ausschließlich durch den Boden und nur in geringem Grade durch das Saatgut übertragbar erscheint. Alkalien, wie luftgelöschter Kalk, Mergel, Soda, Asche, Kompost mit Küchenabfällen, Kali, Chilisalpeter und flüssiger Dünger, desgleichen feuchter Boden befördern die Krankheit, während schwefelsaures Ammoniak und Kainit krankheitshemmend wirken. Daneben wird zweistündige Saatgutdesinfektion mit  $\frac{1}{2}$  l Formol in 160 l Wasser empfohlen. Bei Besprechung von Spongospora subterranea werden die in Amerika geltenden Verkehrseinschränkungen zur Hintanhaltung der weiteren Ausbreitung dieser gefährlichen Kartoffelkrankheit erwähnt. Synchytrium endobioticum, der Knollen-Schorf oder Krebs, auch Blumenkohlkrankheit usw. genannt, wurde auf Magnum bonum bei Kristiansand beobachtet und sofort isoliert, um die weitere Ausbreitung zu verhindern. Es wird die Geschichte dieser im Jahre 1896 in Ungarn zuerst beobachteten Krankheit kurz gestreift; zur Abwehr werden angegeben: Sofortiges Isolieren der kranken Knollen, Verbrennen derselben (verdächtige Küchenabfälle dürfen nur im abgekochten Zustande auf den Düngerhaufen kommen), auf verseuchtem Boden Aussetzen mit dem Kartoffelbau bis zu 6 Jahren; nach Erikssons Versuchen in Schweden hatte Bodendesinfektion mit 1 Proz. Formol (10 l pro 1 qm) einen bemerkenswerten Erfolg. (Die Kosten einer derartigen Behandlung werden mit 20 K pro qm berechnet.) Der Blattfleckenpilz Sporodesmium solani wurde Juli bis August auf der halbfrühen Sorte Louis Botha bemerkt; Abwehr durch Warmwasserbeize bzw. Vernichten (Verbrennen und Vergraben) des befallenen Laubes. Fusarium solani und der Stengelfäulepilz Botrytis cinerea sind nur kurz erwähnt.

Über einen endophytischen, im Endoderm der Kartoffel lebenden Pilz veröffentlichten Wilcox, Link und Cormick<sup>2)</sup> eine vorläufige Mitteilung, derzufolge der Pilz in der ganzen Pflanze, auf die Endodermis beschränkt, zu finden ist; bei der üblichen vegetativen Vermehrung der Kartoffel ist eine Übertragung des Pilzes durch die Sprossen auf die Tochterknollen möglich; auch die mögliche Einwirkung des Pilzes auf die Knollenbildung wird kurz besprochen.

In den Niederlanden wurde das Auftreten von Spongospora subterranea an Knollen einiger Kartoffelsorten im Versuchsfelde des Phytopathologischen Laboratoriums "Willie Commelin Scholten"<sup>3)</sup> zum ersten Male im Jahre 1914 festgestellt. Desinfektionsversuche des Saatgutes mit Formol scheinen Erfolg gehabt zu haben, doch ist im

<sup>1)</sup> Beretning om skadeinsekter og plantesygdommer i land og havebruket. 1914. Kristiania 1915. p. 47.

<sup>2)</sup> Science. 1915. Bd. 41. p. 171; durch Experim. Stat. Rec. Bd. 32. 1915. p. 643.

<sup>3)</sup> Jaarverslag 1913/14. Amsterdam 1915.

Versuchsjahre 1914 bei den zum Versuche einbezogenen Pflanzen *Spongopora* nur sehr spärlich aufgetreten, was vielleicht auf die trockene Aufbewahrung der Kartoffeln zurückzuführen sein dürfte. Bei Amsterdam wurde *Phytophthora erythroseptica*, die von Pethybridge entdeckte Krankheit, an Kartoffeln zum ersten Male beobachtet und der Pilz in Reinkultur gezüchtet; hierbei wurden viele der charakteristischen Oosporen gefunden. An einer Staude befanden sich meist mehrere kranke Knollen und das Laub war unter Welkeerscheinungen vorzeitig abgestorben. *Rhizoctonia solani* an Kartoffeln ist mehr von Belang als bisher angenommen wurde. Als Charakteristica dieser Krankheit werden die Sclerotien, die im Juni längsgerollten (wie bei verschiedenen anderen Welkekrankheiten) Blätter, (die nach einem Regen sich teilweise wenigstens wieder glätten), die braunen Flecken am unteren Stengelteil bis gänzliche Abschnürung der Wurzel vom Stengel unter Wurzelneubildung oberhalb der toten Stelle, die Knöllchenbildung in den Blattachseln bei naßer Witterung und endlich das Absterben der jungen Schosse bei frühzeitigem Befall angegeben. Der erst später im Sommer stattfindende Angriff auf die Knollen wird im allgemeinen weniger gefürchtet; Knollenmißbildung und -verfärbung sind im Gefolge. Zuweilen wurde an den höheren Stengelteilen kranker Pflanzen ein weißer Schimmelbelag von *Hypochnus solani* gefunden, dessen Zusammenhang mit der *Rhizoctonia*-fäule noch nicht geklärt ist. Die ausgeführten Versuche haben gezeigt, daß Verwendung von gesundem Saatgut das beste Vorbeugungsmittel gegen *Rhizoctonia*-fäule ist, daß Bodendesinfektion mit Karbol, Formol oder Schwefel ergebnislos war (Karbol hatte allerdings wachstumsfördernden Einfluß) und daß Saatgut-beize empfehlenswert ist.

#### b) Bakterien.

Cook<sup>1)</sup> berichtet über das epidemische Auftreten einer durch *Bacillus solanacearum* Smith verursachten Bakterienwelkekrankheit der Kartoffel in Süd-Jersey im Sommer 1913. Die Stauden welken plötzlich ab, bevor die Knollen die halbe Größe erreicht haben; die Stengel fallen um und werden schwarz. Die Krankheit befällt auch Tomaten, jedoch nicht in solch starkem Grade wie die Kartoffel. Das starke Auftreten dieser Welkekrankheit dürfte vermutlich mit dem milden Winter und der darauf folgenden außergewöhnlichen Trockenheit im Zusammenhang stehen. Betreffend die Bakterienwelkekrankheit oder „vrot-pootje“ berichtet Doidge<sup>2)</sup> über Methode und Ergebnisse der Infektion von Kartoffeln mit *Bacillus solanacearum*, der auch auf einigen anderen verwandten Pflanzenarten parasitisch ist. Als Vorbeugemittel wird sofortige Vernichtung aller kranken Pflanzen, Vermeiden des Verletzens der Pflanzen beim Umpflanzen (im Falle bei Tomaten), Niederhalten der Unkräuter aus der Familie der Solanaceen und Beseitigung der blattfressenden Insekten angeführt.

Nach v. Wahl und Müller<sup>3)</sup> wurde die Schwarzbeinigkeit (*Bacillus phytophthorus*) durch feuchtes Wetter sehr begünstigt; auch starke Stallmistdüngung hatte einen fördernden Einfluß auf die Krankheit.

<sup>1)</sup> Phytopathol. No. 4. 1915. p. 277.

<sup>2)</sup> Agr. Journ. Union So. Africa. 1914. No. 5; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 50.

<sup>3)</sup> Ber. d. Hauptst. f. Pflanzenschutz in Baden an d. Großh. landw. Versuchsstat. Augustenberg f. 1914. Stuttgart 1915. p. 31.

## c) Schorf.

## a) Allgemeines.

Als Ursache des Schorfigwerdens der Kartoffeln bezeichnen Darnell-Smith<sup>1)</sup> neben physikalischen Einflüssen und Nematodenangriff verschiedene Pilze, von denen in Australien *Oospora scabies*, *Rhizoctonia solani* und *Spondylocidium atrovirens* als Schorferreger beobachtet worden sind. Andere Knollenschorferreger, wie *Spongospora subterranea* und *Synchytrium endobioticum* sind bis jetzt in Neusüdwaies nicht bekannt.

## β) Spongospora.

Eastham<sup>2)</sup> bemerkt in einer Flugschrift, daß der *Spongospora*-Schorf für Kanada eine besondere Bedeutung hat, weniger dadurch, daß die Kartoffelernte durch *Spongospora* geringer wird, als dadurch, daß die Vereinigten Staaten nur dann Kartoffeln über die Grenze lassen, wenn durch die amtliche Bescheinigung der Nachweis erbracht wird, daß die Sendung aus einer Gegend stammt, die frei von *Chrysophlyctis endobiotica* und *Spongospora subterranea* ist. Die Flugschrift geht näher auf das Krankheitsbild ein und warnt vor dem Auspflanzen kranker Knollen. Verseuchte Böden sind vom Kartoffelbau auszuschließen. Alle Behälter, die mit kranken Kartoffeln in Berührung gekommen sind, müssen mit Sublimat sterilisiert werden.

Gorham<sup>3)</sup> beschreibt den Pulverschorf (powdery scab) der Kartoffel, nebst Angabe der empfohlenen Bekämpfungsmittel. Da nach erfolgter Infektion der Kartoffel die bisherigen Bekämpfungsmittel versagen und die Sporen des Pilzes im Boden mehrere Jahre lebensfähig bleiben, so ist in erster Linie die Verwendung von nur gesundem Saatgut unverdächtigter Herkunft geboten.

Kunkel<sup>4)</sup> bringt in einer vorläufigen Mitteilung seine Beobachtungen über den Infektionsvorgang von *Spongospora subterranea* an Kartoffelknollen, welcher bisher unbekannt gewesen zu sein scheint. Dem bereits im Jahre 1842 von Wallroth als *Erysibe subterranea* beschriebenen, in Europa weit verbreiteten Schädling wurde durch den Norweger Brunchorst im Jahre 1885 die Zugehörigkeit zu den *Plasmodiophoraceen* (Schleimpilzen) angewiesen. Nach Lagerheim (1892) wird Südamerika als die eigentliche Heimat des Pilzes bezeichnet. Johnson (1907) beschrieb die Sporenbildung (8 Schwärmsporen aus jeder Zelle des Sporenballes), Osborn (1911) die Plasmodienbildung aus gesonderten Amöben in der Wirtszelle; Güssow stellte im Jahre 1913 den durch *Spongospora subterranea* verursachten powdery scab (Pulverschorf) in Kanada fest. Die Infektion der Knollen erfolgt nach Kunkel durch ein Plasmodium, das zwischen oder durch die Oberhautzellen eindringt und unter der Oberhaut in Form einer flachen, scheibenförmigen Masse sich nach allen Richtungen verbreitet. Die Einwanderung von Plas-

<sup>1)</sup> Agric. Gaz. N. S. Wales. 1914. p. 869; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 443.

<sup>2)</sup> Dom. of Canada Dep. of Agric. Div. of Bot. Farmers Circ. 1914. No. 5; durch Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Jg. 25. 1915. p. 102.

<sup>3)</sup> Dep. Agr. New Brunswick. Hort. Div. Leaflet. 1914. No. 3; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 147.

<sup>4)</sup> Journ. of Agric. Research. Jg. 4. 1915. p. 265. 4 Taf.

modien in gesundes Wirtsgewebe, zuerst interzellulär, dann nach Durchdringung der Zellwände die Zellen selbst erfüllend, ist bisher nicht beobachtet worden. Der Pilz lebt im Protoplasma seines Wirtes. Die Wirtszellen eines jeden Infektionsherdes werden in abnormer Weise zu Wachstum und Teilung angeregt. An eingemieteten Kartoffeln wurde Sporenbildung an der Basis der alten Sori beobachtet; aus den Sporen entwickelten sich auf Kulturmedien einkernige Amöben, die sich zu Plasmodien verbinden und so Neuinfektion verursachen. Diese Plasmodien leben im Nachbargewebe der alten Sori, eine sogenannte Trockenfäule bedingend, die vermutlich nur als mildere Form der Krebskrankheit an wachsenden Kartoffeln aufzufassen ist. Unter ungünstigen Bedingungen verkapseln sich die Amöben in Ruhestadien. Mit diesen Befunden erscheinen Kunkel eine Anzahl Detailfragen über die Plasmodiophoraceen im allgemeinen und über *Plasmodiophora brassicae* im besonderen angeschnitten.

Sands<sup>1)</sup> bringt eine hauptsächlich für Praktikerkreise berechnete Kompilation über Erkennung, Verbreitung und Bekämpfung des Pulverschorfes (powdery scab) der Kartoffel, der im Juni 1914 im Staate New York festgestellt wurde und gegenwärtig auf die Gebiete von Franklin und Clinton beschränkt ist. Die Krankheit ist vom gewöhnlichen Schorf verschieden und scheint durch schlechte, feuchte, alkalische Böden begünstigt und durch Kalkgaben verschlimmert zu werden.

Der Kartoffelschorf trat nach Zimmermann<sup>2)</sup> dort auf, wo vor kurzem Scheideschlamm angewendet wurde; im übrigen brachten aber gepflanzte schorfige Kartoffeln gesunde Knollen. Vielfach zeigten die Kartoffeln eine Schorfbildung nach öfters aufeinanderfolgendem Hackfruchtbau.

#### γ) *Oospora scabies*.

Nach Conner's<sup>3)</sup> Beobachtungen scheint in lehmigen Böden nur sehr wenig Schorf (*Oospora scabies*) über Winter auszudauern, während in Böden mit mehr offener Struktur, wie Torf oder Sand, die Sporen dieses Pilzes den Winter überleben. Schwefel (aber nicht Sulfate) hat einen merklichen Einfluß auf die Verminderung des Schorfes, Chloride hingegen begünstigen die Krankheit.

Nach Lutman und Cunningham<sup>4)</sup> sollte der die Korkwucherung anregende Organismus des Kartoffelschorfes, der bisher unter dem Namen *Oospora scabies* ging, nunmehr als *Actinomyces chromogenus* bezeichnet werden. Durch das Wachstum dieses Organismus werden chemische Stoffe gebildet, die absorbiert, eine Zunahme der Korkzellen an Zahl und Größe bewirken. Dieser Pilz ist weit verbreitet, praktisch in allen Böden vorhanden, am zahlreichsten aber in humusreichen; sein Parasitismus ist fakultativ und mag durch Alkalität, Feuchtigkeit und Überfluß organischer Substanzen im Boden veranlaßt werden. Man vermeint, daß gewisse Rassen des Pilzes die parasitären Eigenschaften stärker entwickelt haben als andre; Lutman und Cunningham ist es jedoch nicht gelungen, morphologische oder Kulturmerkmale ausfindig zu machen, die eine Unterscheidung

<sup>1)</sup> New York Dep. Agr. Circ. 1914. No. 111. 5 Taf.; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 33. 1915. p. 146.

<sup>2)</sup> Mitt. d. Landw. Versuchsstat. Rostock. 1915. p. 77.

<sup>3)</sup> Proc. Ind. Acad. Sc. 1913. p. 131; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 750.

<sup>4)</sup> Vermont Stat. Bull. No. 184. 1914. 12 Taf.; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 546.

dieser Rassen ermöglichen. Die Verbreitung geschieht wahrscheinlich durch Dünger und Humus mehr als durch schorfige Kartoffeln, doch sollten letztere vom Anbau ausgeschaltet oder entsprechend desinfiziert werden. Für die Bekämpfung dürfte sich ein schwach saurer Boden an Stelle neutraler oder alkalischer Böden am aussichtsreichsten erwiesen. Schwefelblüte soll zwar die Schorfmenge vermindern, erweist sich aber, in zu großen Quantitäten verwendet, als schädlich für andere Erntefrüchte. Bisher sind wohl hinsichtlich der Schorfanfälligkeit Sortenunterschiede bei den Kartoffeln beobachtet worden, deren Ursachen nicht näher bekannt sind, aber keine absolut unanfälligen Kartoffelsorten gefunden worden.

Für Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur auf die Keimung und das Wachstum des Kartoffelschorferregers (*Oospora scabies* Thaxt.) (1892), der nach Lutman und Cunningham (s. o.) mit dem von Gasperini bereits im Jahre 1891 beschriebenen Pilz *Actinomyces chromogenus* identisch ist, benutzte Shapovalov<sup>1)</sup> Material aus Maine, Vermont und Wisconsin, von welchem er die Gonidien des Pilzes zur künstlichen Weiterzucht auf Thaxters Kartoffelagar übertrug. Die günstigste Temperatur für das Auskeimen der Gonidien liegt zwischen 35—40° C; diese Temperatur wirkt aber nur in der ersten Zeit des Auskeimens stimulierend (das Auskeimen erfolgt schon nach drei Stunden), für die weitere Entwicklung des Pilzes aber ungünstig. Das Optimum für das Wachstum des Pilzes liegt niedriger, bei 25—30° C, das Maximum bei 40,5° C, das Minimum bei 5° C. Involutionsformen (Kulturmißbildungen) des Pilzes erscheinen nicht infolge von Temperaturbedingungen, sondern waren dann in Menge vorhanden, wenn dem Nährboden 0,25 Proz. Kaliummonophosphat beige-fügt war.

#### δ) Silberschorf.

Nach den Beobachtungen von Brittlebank<sup>2)</sup> ist im Staate Viktoria in Australien seit dem Jahre 1911 keine der schweren, die Kartoffeln in Europa und anderen Ländern befallenden Krankheiten gefunden worden. Die einzig festgestellte neue, jedoch weniger wichtige Krankheit ist die allgemein unter dem Namen „scurf“ der „dry scab“ (*Spondylocladium atrovirens* Harz.) bekannte. Bisher wurden bei den in Australien angebauten Kartoffeln weder *Spongopora subterranea* (Wallr.) Johnson, noch *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Percival beobachtet. *Spongopora* wurde aber bei zwei verschiedenen, aus Europa kommenden Kartoffelsendungen festgestellt, die deshalb vernichtet worden sind. In Anbetracht der Gefährlichkeit der beiden Krankheiten wäre es zweckmäßig, die Kartoffeleinfuhr in Viktoria aus jedem anderen Lande, abgesehen von Australien, gänzlich zu verbieten. Die für das Klima geeigneten Kartoffelsorten könnten im Lande, unter Benutzung von aus dem Auslande eingeführten oder an Ort und Stelle erzielten Knollen, selbst angebaut werden. Bei Befolgung dieses Grundsatzes würde die Gefahr der Einschleppung einer oder der anderen der genannten Krankheiten vermindert. Brittlebank hat während der letzten drei Jahre aus verschiedenen Ländern kommende Kartoffelladungen untersucht und festgestellt, daß die Kartoffeln im allgemeinen von Krankheiten befallen waren. Kein einziger Posten war völlig gesund. Bei einer einzigen Kartoffelladung wurden die

<sup>1)</sup> Journ. of Agr. Res. Jg. 4. 1915. p. 129. 1 Taf.

<sup>2)</sup> The Journ. of the Departm. of Agr. of Victoria, Australia. Vol. 12. 1914. p. 400; durch Agrar-Techn. Rundsch. Jg. 5. 1914. (1915.) p. 1668.



folgenden pflanzlichen Schmarotzer gefunden: *Spongospora subterranea*, *Phytophthora infestans* de Barry, *Rhizoctonia Solani* Kühn, *Spondylocadium atrovirens*, *Fusarium oxysporum* Schlecht, *Oospora scabies* Thaxt. und *Bacillus solanacearum* E. F. Smith.

O'Gara<sup>1)</sup> stellte das Vorhandensein des Silberschorfes (*Spondylocadium atrovirens*) an Kartoffeln in Utah fest. Nach den gepflogenen Erhebungen ergibt sich die Vermutung über eine Verbreitung dieser Krankheit in den Intermontanstaaten, besonders in Utah und Idaho.

#### d) Krebs.

Behla<sup>2)</sup>, der Erforscher des Pflanzenkrebses, äußert sich auch über den durch *Chrysophlyctis endobiotica* verursachten Kartoffelkrebs. Der Pilz ist nach Behlas Bestimmung eine *Olpidiacee*. Da die Biologie und der ganze Zyklus des Erregers nunmehr klargelegt sind, so lassen sich auch rationelle Vorbeugungsmaßregeln gegen das Fortschreiten der Krankheit ergreifen. Vom vergleichenden ökologischen Standpunkte kann der Kartoffelkrebs in keiner Weise etwa den menschlichen Krebs erzeugen. Dies vermag kein Pflanzenkrebs. Der Kartoffelkrebs besitzt aber insofern ein großes Interesse als hier, wie beim Kohlkrebs, eine wuchernde Geschwulst vorliegt, die durch ein bekanntes Lebewesen hervorgerufen wird. Man hat zu unterscheiden zwischen nicht parasitären, durch traumatische chemische, thermische Einflüsse erzeugten Tumoren und parasitären Geschwülsten. Wenn auch die Struktur des menschlichen und pflanzlichen Krebses eine verschiedene ist, so ist die Tatsache, daß es neben nichtparasitären Tumoren in der Botanik auch durch Lebewesen nach Art der Gallenbildung verursachte gibt, von großer Wichtigkeit. Es ist nicht ausgeschlossen, daß auch die menschliche bösartige Krebskrankheit durch einen besonderen belebten Erreger hervorgerufen wird, von einem ähnlichen Entwicklungskrebs, der nicht einen Abschluß hat, wie bei den Gallen erzeugenden Würmern und Insekten, sondern der wie eine Bakterien- und Myxomycetengalle nicht zum Abschluß kommt, sondern sich immer wieder weiter vermehrt und dadurch zu einer fortschreitenden, schrankenlosen Wucherung anregt, wie es eben bei dem unausgesetzt fortschreitenden Wachstum des Menschenkrebses der Fall ist. Tier- und Pflanzengallen sind zu unterscheiden, sind aber ihrem Wesen nach derselbe Prozeß, durch einen in Symbiose lebenden Erreger entstandene Zellwucherung mit Nährzellen.

Cuthbertson<sup>3)</sup> gibt einen kurzen historischen Überblick über die Frage des Kartoffelkrebses nebst einer Liste widerstandsfähiger Sorten zum Anbau auf seuchenverdächtigen Böden; nahezu alle der aufgezählten Varietäten sind weißblühend. Doidge<sup>4)</sup> beschreibt in Kürze den durch *Synchytrium endobioticum* verursachten Kartoffelkrebs, der aus Europa und Amerika bekannt ist, bisher aber in Südafrika noch nicht beobachtet wurde. Eine Kartenskizze von England zeigt die infizierten Gebiete. Es wird auf die verschiedene Sortenwiderstandsfähigkeit und die von Eriksson empfohlene Formalinbehandlung (1 Proz.) verwiesen.

<sup>1)</sup> Science. 1915. p. 131; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 643.

<sup>2)</sup> Centralbl. f. Landw. Jg. 95. 1915. p. 186.

<sup>3)</sup> Garden Chron. 1915. p. 97. 1 Abb.; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 33. 1915. p. 147.

<sup>4)</sup> Agr. Union So. Africa. 1914. p. 50; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 342.

Da wiederholt Verwechslungen von Kartoffelschorf mit dem Kartoffelkrebs vorgekommen sind, so gibt K ö c k <sup>1)</sup> eine Charakterisierung dieser beiden Krankheiten. Vom Schorf, unter dem man im allgemeinen das Entstehen brauner, rauher Unterbrechungen der Knollenoberfläche in Form von rundlichen isolierten Stellen versteht, unterscheidet man je nach der Intensität und Eigenart des Auftretens verschiedene Formen, die man als Flach-, Tief-, Buckel- und Buckeltiefschorf bezeichnet. Vielfach wurden nun der Buckel- und Buckeltiefschorf mit den Anfangsstadien des Kartoffelkrebses verwechselt. Dies ist aber nur bei der äußerlichen Besichtigung möglich, da die mikroskopische Untersuchung in allen Fällen unzweifelhafte Beweise für das Vorhandensein des Kartoffelkrebses, bzw. des die Krankheit verursachenden Schleimpilzes *Chrysophlyctis endobiotica* Schilb. gibt. Der Kartoffelkrebs ist aus dem Grunde so gefährlich, weil der Pilz, je nach Boden- und Witterungsverhältnissen, längere oder kürzere Zeit im Boden lebensfähig bleibt und gesundes Saatgut befallen kann. Bei einem starken Auftreten der Krankheit treten auch auf dem unteren Teil der Stengel krebssartige Wucherungen auf, die genügendes Ansteckungsmaterial für die nächste Beschickung des betreffenden Feldes mit Kartoffeln abgeben. Infizierte Kartoffeln dürfen nicht als Saatgut verwendet werden. Eine Immunität der einen oder der anderen Sorte gegenüber der Krankheit besteht nicht. Befallene Felder sind möglichst schnell und früh abzuernten. Das Kraut und die stark befallenen Knollen sind an Ort und Stelle zu verbrennen; weniger stark befallene Knollen können gedämpft und verfüttert werden. Ein Wiederanbau von Kartoffeln auf verseuchten Feldern ist eine längere Reihe von Jahren zu vermeiden.

J a c o b i <sup>2)</sup> empfiehlt zur Bekämpfung des Kartoffelkrebses auch die sich als vorteilhaft erwiesene Bodendesinfektion durch hohe Kali- und Kunstdüngergaben. Krebskranke Kartoffeln sollten, wegen Verbreitung des Pilzes durch die Fäkalien, nicht zu Speise- und Futterzwecken verwendet werden. Am besten verwendet man Kartoffeln von erkrankten Feldern durch die Brennerei oder man dämpft sie und säuert sie als Viehfutter ein. Erkrankte Knollen sollten vom Handel gänzlich ausgeschlossen sein. L ü s t n e r <sup>3)</sup> macht auf die Gefährlichkeit des Kartoffelkrebses (*Chrysophlyctis endobiotica* Schilb.), der in Deutschland, infolge der sofort ergriffenen Gegenmaßregeln, noch keine Verbreitung gefunden hat, aufmerksam und schildert die Entwicklung und Tätigkeit des Pilzes. Bei der Bekämpfung ist folgendes zu beachten: Von kranken Feldern geerntete Knollen dürfen unter keinen Umständen als Setzkartoffeln verwendet oder verkauft werden, sondern sind möglichst bald aufzubrauchen, wobei alle Abfälle sorgfältig zu sammeln und zu verbrennen sind. Zur sicheren Vernichtung des Pilzes sind die Kartoffeln nur in gekochtem Zustande zu verwerten oder, wenn möglich, zu Brennereizwecken zu verwenden; auf den kranken Feldern sind alle Reste der Kartoffelpflanze nach der Ernte sorgfältig einzusammeln und zu verbrennen. Geschieht dies nicht, so gehen die in diesen Resten vorhandenen Dauersporen in den Boden über und verseuchen ihn. Kranke Felder sind auf mindestens 5 Jahre vom Kartoffelbau auszuschließen, denn nur auf diese Weise ist es möglich, die im Boden ruhenden Dauersporen zum Absterben

<sup>1)</sup> Landw. Brenner.-Zeitg. Jg. 2. 1915. p. 187.

<sup>2)</sup> Hannov. Land- u. Forstw. Zeitg. Jg. 68. 1915. p. 772.

<sup>3)</sup> Amtsbl. d. Landw.-Kamm. f. d. Regierungsbez. Wiesbaden. Jg. 97. 1915. p. 238.

zu bringen. Es ist auch darauf zu achten, daß bei den Bestellungsarbeiten der verseuchten Felder von ihnen keine Erde und in ihr Dauersporen durch Menschen, Tiere oder Geräte auf gesunde Felder übertragen werden. Von auswärts bezogene Setzkartoffeln sind sorgfältig auf die Krankheit zu untersuchen und eventuell auszuschließen.

Über die in Befolgung der "Wart disease of potatoes Order" ausgeführten Untersuchungen und Bekämpfungsmaßnahmen in den Jahren 1913 und 1914 berichtet Middleton<sup>1)</sup>. Nach den Beobachtungen der letzten 5 Jahre scheint es gewisse Kartoffelsorten zu geben, die völlig widerstandsfähig gegen die „Warzenkrankheit“ sind und unter gewöhnlichen Umständen vollständig gesunde Ernten ergeben, während anfällige Sorten eine Anzahl von warzigen Tochterknollen bringen.

Nach den Beobachtungen von Schaffnit<sup>2)</sup> hat der Kartoffelkrebs in den Rheinlanden eine weitere Verbreitung gefunden. Zumeist handelte es sich um gemietetes Gartenland kleiner Leute (Fabriksarbeiter), wo Jahr für Jahr Kartoffeln ohne Saatwechsel angebaut werden. Eine Begünstigung erfuhr die Entwicklung des Pilzes durch geeignete Witterungsverhältnisse (warmes Wetter nach anhaltendem Regen). Nach der Mitteilung von Werth<sup>3)</sup> beschäftigt sich die Kaiserl. Biologische Anstalt für Land- und Forstwirtschaft in Dahlem seit mehreren Jahren mit Versuchen zur Bekämpfung des Kartoffelkrebses, die u. a. eine so ungünstige Einwirkung des Schwefels (Düngung des Bodens) auf die Kartoffelpflanzen erkennen ließen, daß diese Bekämpfungsart als aussichtslos fallen gelassen werden mußte. Bessere Aussichten eröffnen dagegen die Ergebnisse der Versuche über die Anfälligkeit verschiedener Kartoffelsorten. Die bisherigen Resultate können aber noch nicht als endgültig angesehen werden, da weitere Versuche noch entscheiden müssen, inwieweit diese Resultate auf dauernden Eigenschaften der betreffenden Kartoffelsorten beruhen oder durch besondere Witterungs- oder andere Umstände mitbedingt sind. Nach der Feststellung von Zimmermann<sup>4)</sup> wurde das Auftreten des Kartoffelkrebses an einem Ort in Mecklenburg-Schwerin zum ersten Male beobachtet und scheint es, daß diese Krankheit schon seit mindestens drei Jahren hier aufgetreten ist. Es handelte sich als Ursprungsort um einen Haushaltsgarten, wo der Krankheitserreger in außerordentlich hohem Grade verbreitet war. Die Krankheit trat besonders auf solchen Flächen auf, die jahraus, jahrein mit Kartoffeln bestellt wurden. Die Knollen zeigten sämtliche Entwicklungsstadien, beginnend von der einfachen schwachen blumenkohlartigen Wucherung auf den Kartoffelaugen bis zum gänzlichen Verfall der Knolle unter Fäulniserscheinungen. Sichergestellt wurde eine Übertragung der Krankheit durch infiziertes Saatgut und kranke Pflanzenteile.

Die in einer früheren Veröffentlichung von Eriksson empfohlene Formaldehydbehandlung zur Bekämpfung des Kartoffelkrebses (*Chrysophlyctis endobiotica*) wurde im Sommer 1914 an verschiedenen Stellen Englands überprüft, aber als unzureichend befunden<sup>5)</sup>. Neben Formaldehydlösung wurden vergleichsweise auch Sublimat, Düngung mit Kalium-

<sup>1)</sup> Ann. Rep. Hort. Branch. 1913/1914. p. 38; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 444.

<sup>2)</sup> Veröffentl. d. Landw.-Kamm. f. d. Rheinprov. 1915. p. 26.

<sup>3)</sup> Deutsch. Landw. Presse. Jg. 42. 1915. p. 805.

<sup>4)</sup> Mitt. d. Landw. Versuchs-Stat. Rostock. 1915. p. 77.

<sup>5)</sup> Journ. Bot. Agr. London. 1915. p. 1126; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 33. 1915. p. 446.

sulfat, Kainit, Salz, Superphosphat usw. auf bekannt stark verseuchtem Boden in den Versuch einbezogen, jedoch nur geringe Unterschiede im Auftreten der Krankheit beobachtet. In den mit Sublimat behandelten Parzellen scheint die Krankheit sogar stärker gewesen zu sein.

Über den durch *Chrysophlyctis endobiotica* verursachten Kartoffelkrebs, der in Deutschland im Jahre 1908 zuerst beobachtet worden ist, veröffentlicht „La Terre Vaudoise“<sup>1)</sup> eine kurze Notiz. Durch die Krankheit können bedeutende Ertragseinbußen verursacht werden und der Export kann insofern behindert sein, als die einführenden Staaten sich durch Pflanzenschutzatteste, welche das Freisein der Kartoffelsendungen von diesem Pilze nachweisen müssen, gegen die Einschleppung dieses gefährlichen Kartoffelschädling zu schützen suchen. Die krebsskranken Kartoffeln werden in ihrem Aussehen näher gekennzeichnet. Fortgesetzter Kartoffelbau auf demselben Boden führt zu fortschreitender Bodenverseuchung, da die Sporen des Pilzes aus den kranken Knollen in den Erdboden gelangen. Die Verschleppung des Krebses erfolgt durch kranke Saatknollen. Frühreife Sorten sind dem Befall weniger ausgesetzt. Sorgfältigste Kultur und Saatgutauswahl erscheinen geboten. Eriksson hat durch Desinfektion mit 1 Proz. (käufl.) Formalin gute Bekämpfungserfolge gegen diese Krankheit bei der Kartoffelsorte Magnum bonum erzielt.

#### e) *Phytophthora*.

Über Spritzversuche gegen *Phytophthora* berichtet Baily<sup>2)</sup>; diese Pilzkrankheit tritt gelegentlich im Westen von Oregon in bedrohlicher Weise auf. Die Versuche mit Bordeauxbrühe und Bleiarsoniat zur gleichzeitigen Bekämpfung der Krautfäule und schädlicher Insekten ergaben in einem Falle einen Mehrertrag um 44,4 Proz.; 2jährige Versuche an einer anderen Versuchsstelle zeigten, daß diese Krautfäule durch Bordeauxbrühe mit Erfolg bekämpft werden kann. Als die Krankheit einen Monat vor der Ernte sich zeigte, wurde bei den bespritzten Pflanzen eine Ertragssteigerung in einem Falle mit 46 bu (1 bu = 25 kg), in einem anderen Fall mit 203 bu auf 1 acre (= 40 a) verzeichnet.

Clausen<sup>3)</sup> hat in den Jahren 1911 und 1913 Gelegenheit gehabt, den Einfluß des Bodens und der Düngung bei dem Auftreten der durch *Phytophthora infestans* verursachten Kartoffelkrankheit zu beobachten. Im Jahre 1910 hat schwarzerdiger Sandboden besonders günstige Bedingungen für die Verbreitung der Krankheit geschaffen, ferner hat auch der reine Sandboden der Krankheit mehr Vorschub geleistet als der lehmige Sandboden. In der Praxis beobachtet man sonst, daß schwere Böden mehr kranke Knollen als leichte Böden zeitigen. Bezüglich des Einflusses der Düngung zeigte sich, daß eine Vermehrung der Zahl der kranken Knollen eingetreten ist, so bald aus der Volldüngung der Stickstoff weggelassen wurde. Dies läßt sich aber nicht verallgemeinern, denn auch bei der Volldüngung entstanden nicht die widerstandsfähigsten Knollen. Ungedüngte Pflanzen waren im Durchschnitt empfindlicher als diejenigen, denen ein Mineralstoff in der Düngung entzogen war. Im Jahre 1913 hat sich wieder gezeigt, daß der lehmige Sandboden etwas weniger kranke Knollen zeitigte als der reine Sandboden, wenn auch im Jahre 1910 der Unterschied größer war. Was

<sup>1)</sup> La Terre Vaudoise. Jg. 7. 1915. p. 198.

<sup>2)</sup> Oregon Stat. Bien. Crop Pest and Hort. Rpt. 1913/14. p. 237; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 642.

<sup>3)</sup> Deutsche Landw. Presse. Jg. 42. 1915. p. 611.

die Düngung anbetrifft, so ersieht man desgleichen, daß die einseitig mit Mineraldüngung (ohne Stickstoff) gedüngten Kartoffeln leichter infiziert werden als die mit Volldüngung versehenen. Auf den Parzellen ohne Phosphorsäure und ohne Kali sinkt wieder der Prozentsatz an kranken Knollen. Die ungedüngten Parzellen hatten ohne Stallmist relativ wenig Knollen, während sie 1913 stark verseucht waren. Augenscheinlich ist, daß durch die Düngung mit Stallmist allein ebensowenig als durch die Düngung mit künstlichen Düngstoffen die widerstandsfähigsten Pflanzen erzielt werden, sondern die gesunderen Pflanzen entwickeln sich bei der gleichzeitigen Anwendung der beiden Düngungen. Entgegen der nicht selten in der Praxis vertretenen Meinung, daß durch eine reichliche Düngung erzielte Knollen eine geringere Haltbarkeit besitzen, wurde festgestellt, daß auch bei starker Düngung und starker Ertragsvermehrung widerstandsfähige Früchte erzielt werden können. Weiterhin veröffentlicht Clausen<sup>1)</sup> einige Beobachtungen über den Einfluß der Düngung auf die Ausbreitung der Kartoffelkrankheit, die er im Jahre 1915 gemacht hat. Hier handelte es sich um den Einfluß der Kalkdüngung, durch die die Krankheit ganz auffällig begünstigt worden ist. Die kranken Knollen hatten sich auf dem gekalkten Felde bis auf das Zehnfache vermehrt. Die Ursache dieser Erscheinung läßt sich nicht mit Sicherheit feststellen. Möglicherweise hat die alkalische Reaktion im Boden den Organismus der Kartoffelpflanzen derartig beeinflußt, daß die Kartoffeln vom Kartoffelpilz leichter befallen werden, möglich ist aber auch, daß die durch den Kalk veranlaßte Lockerung des Bodens eine Erleichterung für die Bewegung der Schwärmsporen des Pilzes geschaffen hat und deshalb die Knollen leichter infiziert werden konnten.

Duke of Bedford und Pickering<sup>2)</sup> halten auf Grund ausgeführter Spritzversuche gegen *Phytophthora* an Kartoffeln die Woburn-Bordeaux-Paste als Fungizid gleichwertig der gewöhnlichen Bordeauxmischung. Die Paste wird durch Präzipitierung einer Kupfersulfatlösung mit reinem Kalkwasser erhalten und bei Gebrauch einfach mit Wasser verdünnt. 15 bis 16 Pfd. (1 Pfd. = 453 g) der Paste erwiesen sich ebenso wirksam wie eine aus 8 Pfd. Kupfersulfat und 8 Pfd. Kalk in 100 Gall. (= ca. 1 proz.) Wasser bereitete Bordeauxmischung, wobei noch zu bemerken ist, daß die auf gewöhnlichem Wege bereitete Bordeauxmischung ungefähr 5—6 mal so viel Kupfer enthält als die Paste. Kupfersodabrühe erwies sich vergleichsweise nicht so günstig wie die Paste oder Bordeauxbrühe.

Da gewisse Gegenden Hannovers im Jahre 1914 stark an der Kartoffelkrankheit (*Phytophthora infestans*) zu leiden hatten, gibt Falk<sup>3)</sup> eine Beschreibung der Krankheit, mit genauer Angabe der Herstellung der Bordeauxbrühe, die das einzig erprobt-wirksame Bekämpfungsmittel ist. Infolge der Verbreitung der Krankheit von Feld zu Feld durch entsprechenden Luftzug, können aber Bekämpfungsmittel nur dann einen durchgreifenden Erfolg haben, wenn sie in größeren Landbezirken einheitlich durchgeführt werden, bzw. geeignete Persönlichkeiten die Leitung der notwendigen Maßnahmen, unter Unterstützung der nächstliegenden Pflanzenschutzstationen und ähnlichen Instituten, in die Hand nehmen. Fardunji<sup>4)</sup> berichtet,

<sup>1)</sup> Deutsch. Landw. Presse. Jg. 42. 1915. p. 696.

<sup>2)</sup> Woburn Exp. Fruit Farm. Rep. 1914. p. 1; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 444.

<sup>3)</sup> Hannov. Land- und Forstw. Zeitg. Jg 68. 1915. p. 407.

<sup>4)</sup> Mem. of the Departem. of Agr. in India, Botan. Ser. Vol. 7. 1915. No. 3 1 Taf.; durch Intern. Agr.-Techn. Rundsch. Jg. 6. 1915. p. 1214.

daß *Phytophthora infestans* weniger in den Ebenen als in den Hügelseiten Indiens Verheerungen anrichtet. Ihr Auftreten kann auf die Verwendung von Saatknochen aus verseuchten Orten zurückzuführen sein; an manchen Orten vernichtete der Pilz binnen einer Woche ganze Felder. Die Gegenwart der Krankheit verriet sich durch den unangenehmen Geruch der in Fäulnis übergehenden Blätter. Die befallenen Felder brachten nur sehr geringe Ernten. Die geernteten, anscheinend gesunden Knochen wurden bei der Aufbewahrung trockenfaul. Auf befallenen Feldern der Ebene geerntete Kartoffeln brachten gesunde Früchte, und aus krankheitsfreien Orten stammende Saatkartoffeln wurden mit Erfolg in infizierten Feldern angebaut. Diese Erfahrungen und das Absterben von Reinkulturen des Pilzes während des Sommers beweisen, daß die in der Ebene herrschende Hitze zur Vernichtung des Parasiten hinreicht. Der Pilz scheint eine gewisse tödende Wirkung auf die in den Nährzellen enthaltenen Stärkekörner auszuüben, denn sie sind deutlich gefurcht und im Aussehen verändert. *Fraser*<sup>1)</sup> gibt eine kurze Beschreibung der schwarzen und blauen Schimmelfäule, Trocken- und Naßfäule und *Phytophthora*-fäule der Kartoffel in Lagerräumen. Die Abwehrmaßnahmen erstrecken sich auf entsprechenden Fruchtwechsel, sorgfältige Ernte bei trockener Witterung und Einmietung in reinen, mäßig trockenen Kellern mit Temperatur von nicht über 40° F (4,5°C).

Der Hauptgrund für die auffallende Tatsache, daß sich in Deutschland die Bespritzung der Kartoffeln mit Kupferkalkbrühe oder mit einer anderen Kupferbrühe zwecks erfolgreicher Verhütung der Krautfäule oder Kartoffelkrankheit (*Phytophthora infestans*) bisher sehr wenig eingebürgert hat, liegt nach *Hiltner*<sup>2)</sup> darin, daß diese Bespritzung nur vorbeugend wirkt. Wirkt die Bespritzung, ohne daß nachher die Krankheit auftritt, so ist ihr eigentlicher Zweck verfehlt, ja es wird sogar behauptet, daß sie in diesem Falle eher etwas vermindernd auf den Ertrag einwirke. Dazu kommt, daß das Auftreten des Pilzes durchaus von der Witterung abhängt. Am günstigsten ist für ihn eine schwüle, gewitter- und regenreiche Witterung, während seine Weiterverbreitung sofort zum Stillstand kommt, falls trockenes, heiteres Wetter eintritt. Gerade zu solchen Zeiten, wo die Bespritzung ratsam ist, kommt es häufig vor, daß die Spritzbrühe noch an demselben Tage wieder völlig abgewaschen wird und dadurch fast unwirksam bleibt. Die Bespritzung muß dann erst mehrmals wiederholt werden, so daß der erzielte Nutzen unter keinen Umständen in einem Verhältnis zu den Kosten und der Arbeit steht. Was nun die Durchführung der Bespritzung anbetrifft, so genügt eine solche zu Beginn der zweiten Hälfte des Juli und eine weitere etwa Mitte August. Man verwendet eine 1 proz. Kupferkalkbrühe, wobei auf 1 ha etwa 600 l Spritzflüssigkeit gerechnet werden müssen, so daß dafür 6 kg Kupfervitriol notwendig sind. Um noch mehr an Kupfervitriol zu sparen, kann mit gleichem Erfolge auch die sogenannte *Martini*-sche Brühe, die aus einer Kupferkalkalaunmischung besteht, verwendet werden, zu deren Herstellung etwas weniger als die Hälfte an Kupfervitriol notwendig ist. Nach neueren Berichten, deren Richtigkeit aber *Hiltner* noch nicht aus eigener Erfahrung bestätigen kann, soll auch die Schwefelkalkbrühe vorbeugend gegen die Krautfäule wirken. *Korff*<sup>3)</sup> gibt für

<sup>1)</sup> Ann. Rep. Quebec Soc. Protect. Plants. 1913/1914. p. 50; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 547.

<sup>2)</sup> Wochenbl. d. landw. Ver. in Bayern. Jg. 105. 1915. p. 217.

<sup>3)</sup> Natur u. Kultur. Jg. 12. 1915. H. 21/22; Prakt. Blätt. f. Pflanzenb. u. Pflanzensch. Jg. 13. 1915. p. 109.

die Zwecke und für die Belehrung der praktischen Landwirte eine Beschreibung der durch *Phytophthora infestans* verursachten Kartoffelkrankheit, schildert den ganzen Krankheitsverlauf und hebt dann die Bekämpfung der Krankheit durch die Kupferkalkbrühe (deren Bereitung und Anwendung genau beschrieben werden) hervor. Zum Schlusse verweist er auf die Erfüllung derjenigen Bedingungen hin (Wahl der Bodenlagen, Düngung, Bodenbearbeitung, Auswahl widerstandsfähigerer Sorten, Verwendung gesunden Saatgutes, sorgfältig durchgeführte Ernte mit Scheidung gesunder und kranker Knollen, entsprechende Überwinterung), die auf ein gesundes Wachstum der Kartoffeln und die Erhöhung ihrer Widerstandskraft gegen äußere Einflüsse abzielen.

Über die Keimung und Infektionsversuche mit dem Pilz der Krautfäule der Kartoffel (*Phytophthora infestans*) hat Melhus<sup>1)</sup> die Ergebnisse dreijähriger Beobachtungen veröffentlicht, welche a) die äußeren Einflüsse auf die Sporenkeimung, b) die Giftwirkung gewisser Chemikalien und Spritzmittel auf die Keimung beim Temperaturoptimum und c) die künstliche Übertragung der Krautfäule betreffen. Auf die umfangreiche Arbeit (64 S.) kann nur in Schlagworten eingegangen werden. Seit dem ersten Auftreten der *Phytophthora* in Europa im Jahre 1842 bzw. seit den Studien von Schacht (1856) und de Bary (1863) ist über die Biologie dieses Pilzes eigentlich nur wenig Neues bekannt geworden. Die bei seinen Vorstudien über *Cystopus candidus* (1911) verwendete Untersuchungstechnik hat Melhus auch hier angewendet und den Bedürfnissen entsprechend feiner ausgebaut. Das geeignete Sporenmaterial wurde von Reinkulturen auf Kartoffelblöcken oder direkt von infiziertem Kartoffellaub entnommen. Die Sporen von *Phytophthora* keimen entweder direkt, durch Ausbildung eines Keimschlauches, oder indirekt, mittels Zoosporen. Die Art der Keimung ist von Temperatur, Feuchtigkeit und Kulturmedium abhängig. Die Zoosporenbildung, welche am günstigsten in Wasser vor sich geht, erreicht ihr Entwicklungsminimum bei 2—3° C, hat ihr Bildungsoptimum bei 12—13° C und ihr Maximum bei 24—25° C; die Entwicklungsbedingungen für die direkte Keimung (Keimschlauchbildung) liegen bei höheren Temperaturen, das Minimum nahe bei 12—13° C, das Optimum bei 24° C, das Maximum nahe bei 30° C. Die erforderliche Keimzeit ist von der Lebenskraft der Sporen und von äußeren Einflüssen abhängig; die kürzeste Zeit beansprucht die indirekte Keimung (in einem Beobachtungsfalle nur 45 Min., gewöhnlich 1—3 Std., im Temperaturoptimum durchschnittlich 1,8 Std.); bei Temperatursteigerung über 13° C nimmt auch die Keimzeit zu. Die direkte Keimung erfolgt langsamer. Die Zahl der gekeimten Sporen betrug durchschnittlich 80 Proz. (beim Temperaturoptimum von 11—12° C). Bei Temperaturen über 20° C wurde Degeneration der Zoosporen festgestellt, da offenbar die osmotische Aktivität bei höherer Temperatur für nacktes Zellplasma zu groß wird. Die indirekte Keimung erfordert keine Neuformung des Zellplasmas und daher weniger Energie, die Zellwand- und Keimschlauchbildung der auskeimenden Zoospore aber benötigt höhere Temperaturen. Die Länge des Keimschlauches variiert gleichsinnig mit der Temperatur. Bei konstanter Temperatur gehaltene Sporen keimten rascher als solche, welche Temperaturschwankungen ausgesetzt waren und zwar scheint eine anfänglich erhöhte (wenn auch nur kurz

<sup>1)</sup> Agr. Exp. Stat. Univers. Wisconsin. Madison Research. Bull. 37. 1915. 17 Taf.

andauernde) Temperatur die Keimung nicht günstig zu beeinflussen. Niedrige Anfangstemperaturen von  $1^{\circ}\text{C}$  mit allmählicher Steigerung auf  $9\text{--}13^{\circ}\text{C}$  erschienen aber ohne nachteilige Einwirkung. Die Beweglichkeitsperiode der Zoosporen hat bei  $5\text{--}6^{\circ}\text{C}$  eine Dauer von 22 Stunden, nimmt bei Temperatursteigerung entsprechend ab (bei  $24\text{--}25^{\circ}\text{C}$  nur mehr 19 Min.) und dürfte ihr Temperaturmaximum bei  $30^{\circ}\text{C}$  erreichen. Die Zoospore bildet nämlich nach Verlust ihrer Beweglichkeit eine Zellwand aus, was natürlich bei  $24^{\circ}\text{C}$  rascher erfolgt als bei  $6^{\circ}\text{C}$ , da die Respiration und Absorption in Wasser bei Temperatursteigerung wächst. Die Tötung der Sporen durch Trockenheit des gewöhnlichen Laboratoriumsraumes erfolgt in 6—24 Stunden. Frost, der das Kartoffellaub zum Absterben bringt, tötet auch die Konidien. Licht oder Lichtmangel hat im Temperaturoptimum keinen Einfluß auf die Keimung. Sauerstoffzunahme im Kulturmedium hat auf die Keimung einen hemmenden Einfluß gezeigt (im Gegensatz zu den Beobachtungen von Ward 1887 und Klebahn 1909 über die keimungsfördernde Wirkung des Sauerstoffs); ebenso hat Preßsaft von infizierten Blättern (wahrscheinlich infolge des Gehaltes an Säuren oder anderer Zerfallsprodukte) eine entschieden keimhemmende Wirkung erkennen lassen. In 1—16 proz. Zucker- (Dextrose-) lösung kann sowohl direkte als auch indirekte Keimung erfolgen; die Zoosporenbildung erfolgte leicht in 1-, 4- und 8 proz. Lösung, nur mehr spärlich in 16 proz. Lösung und überhaupt nicht mehr bei 20 proz. Konzentration; 5 proz. Dextroslösung erleichtert die indirekte Keimung nicht, sondern scheint, im Vergleich zu Wasser, diese eher zu hindern. Die Dichte des Keimungsmediums ist zweifellos von Einfluß auf die osmotische Aktivität und der osmotische Druck bestimmend für die Art der Keimung insofern, als bei niedrigem osmotischen Druck Zoosporenbildung erfolgt. Die direkte Keimung hat ihr Temperaturminimum nahe dem Optimum der indirekten Keimung und ihr Optimum beim Maximum der letzteren. Im Freiland, auf dem vom Tau oder Regen benetzten Kartoffellaub, konnte nur indirekte (keine direkte) Keimung festgestellt werden. Melhus vergleicht nun seine Versuchsergebnisse mit den bisherigen Freilandbeobachtungen, welche in gleichem Sinne verhältnismäßig niedrige Temperaturen und große Feuchtigkeit (Regen) als günstig für das epidemische Auftreten der *Phytophthora* bezeichnen. Nach Jensen (1887) kann *Phytophthora* in Gegenden mit einer Mitteltemperatur über  $25^{\circ}\text{C}$  nicht mehr existieren, ist also selten südlich des 40. Breitengrades in Amerika und hauptsächlich nördlich des 50. Breitengrades in Europa vertreten; eine Regenmenge von 20—40 inch. (50—100 cm) und eine Jahresisotherme von  $10^{\circ}\text{C}$  scheint zu den die *Phytophthora* begünstigenden Faktoren zu gehören. Im Süden sind die höheren Lagen wegen der kühleren Nächte für *Phytophthora* anfälliger. Es wird auf ähnliche Zusammenhänge von Temperatur und Feuchtigkeit mit dem Auftreten anderer *Peronosporaceen* (*Peronospora parasitica*, *P. schleideniana*, *Plasmopara viticola* usw.) und anderer Pilze nach den Angaben verschiedener Forscher hingewiesen und die für *Phytophthora* erforderliche, konstant niedrige Temperatur im Gegensatz zu davon abweichenden Befunden bei *Puccinia graminis* (Eriksson 1896) und *Ascolobus* (Dodge 1912) mit dem extrem ephemeren Charakter der *Phytophthora* sporen erklärt. Versuche mit 5 verschiedenen Kupfersalzen —  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  —  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  —  $\text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  —  $\text{CuSO}_4 \cdot 4\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  —  $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  — die (ausgenommen das Kupfernitrat)



gleichzeitig gegen die Sporen von *Phytophthora* und von *Plasmopara viticola* angewendet wurden, haben gezeigt, daß alle diese Salze (ausgenommen Kupferammonsulfat) annähernd gleich toxisch wirken, gleichen Kupfergehalt vorausgesetzt, daß also der Kupfergehalt allein im Nitrats, Acetat, Sulfat und Chlorid für die Fungizidwirkung ausschlaggebend und 0,0159 Proz. Kupfer zur Verhinderung der indirekten Keimung im Temperaturoptimum nötig ist. Tatsächlich ist also eine ungefähr 5 mal größere Konzentration des Kupfers nötig, als bisherige Forscher angenommen haben. Eine 2proz. Bordeauxbrühe enthält aber 200 mal mehr Kupfersulfat als nach den Laboratoriumsversuchen für die Fungizidwirkung nötig wäre, so daß also eine Verminderung des Kupfervitriols auf eine 1½, 1 oder ½ proz. Brühe eine große Ersparnis bedeuten würde, falls sich derartig geringprozentige Mischungen, eventuell unter Zusatz eines Haftmittels, bei praktischen Versuchen als ausreichend erweisen würden. Kupferchlorid wirkt weniger toxisch als die anderen Salze, Kupferammonsulfat (laubschädigend!) aber ca. 8 mal giftiger als die übrigen Salze, was möglicherweise mit der verschiedenartigen Ionisation dieses Salzes in Beziehung gebracht werden dürfte. Geringe Gehaltsunterschiede an Calciumoxyd ändern die Fungizidwirkung der Kupferkalkbrühe nicht; die Woburnbrühe mit geringem Kalkgehalt erwies sich nicht giftiger als andere Kupferkalkbrühen mit größeren Kalkmengen. Die Dauphinybrühe erwies sich giftiger als die Bordeaux-Sodabrühe. Die Sporen von *Phytophthora* sind gegen Kupfer widerstandsfähiger als die von *Plasmopara*, was schon Wüthrich (1892) betont hat. Pariser-Grün kommt als Fungizid kaum in Betracht. Desgleichen hat Schwefel, weder kristallisiert, noch in Pulverform, (als unlöslich in Wasser) die *Phytophthora* keimung verhindert. Gegen Polysulfide ist *Plasmopara* widerstandsfähiger als *Phytophthora*, auch haben sich die Polysulfide viel weniger wirksam erwiesen als die untersuchten Kupfermittel. Calciumpolysulfid (z. B. Sherwin-Williams Schwefelkalkbrühe) wirkt gegen *Phytophthora* erst im Verhältnis von 1 Teil Brühe auf 21,7 Teile Wasser (= 2 Proz. Gehalt an Trockensubstanz); desgleichen wirkt Kaliumpolysulfid erst 2-prozentig sicher keimverhindernd, während die Wirksamkeit des Natriumpolysulfids nahe bei 1 Proz. liegt. In den untersuchten Polysulfiden erwiesen sich Natriumhydroxyd und Schwefelwasserstoff als die giftigsten Anteile. Die künstliche Blattinfektion gelang bei 12—24 Stunden lang auf 10—13° C abgekühlt gehaltenen Pflanzen (um genügend Zeit zur Keimung der Konidien zu lassen) erfolgreicher (95—100 Proz.), als bei höheren Temperaturen (bei 17° C nur 85 Proz.) und mißlang völlig bei 25—30° C. Die sichtbaren Anzeichen der gelungenen Infektion erschienen bei 23—27° C durchschnittlich nach 2—3 Tagen, bei niedrigeren Temperaturen etwas langsamer. Das Optimum für das Mycelwachstum im Wirtsgewebe liegt bei 24° C. Eine Blattinfektion ist, wie Versuche mit Konidienaufschwemmungen in 10 proz. Dextroselösung zeigten, auch bei direkter Keimung möglich. Die Blattoberseite ist für die Infektion wohl empfänglich, aber viel weniger als die Blattunterseite, da die Infektionsempfänglichkeit von der Anzahl der Spaltöffnungen in der Blattoberhaut abhängt, die auf der Blattunterseite 4—5 mal größer ist als auf der Oberseite des Blattes. Die Bespritzung des Kartoffellaubes mit einem Fungizid von der Blattunterseite her würde daher zweifelsohne viel wirksamer sein, als die bisher geübte blattoberseitige Bespritzung, die sich allerdings bis jetzt als völlig ausreichend erwiesen hat.

Melhus<sup>1)</sup> führt weiter experimentell den Nachweis, daß *Peronospora parasitica* auf *Lepidium virginicum*, *Cystopus candidus* auf derselben Wirtspflanze und auf *Capsella bursa pastoris*, *Peronospora ficariae* auf *Ranunculus ficaria* und *R. fascicularis*, *Peronospora viciae* auf *Vicia sepium* und *Plasmopara halstedii* auf *Helianthus diversicatus* so wie die *Phytophthora infestans* der Kartoffel in überwinternden einjährigen, in zweijährigen oder in ausdauernden Pflanzen den Winter in Form von Mycelien im Wirtsgewebe — in oberirdischen oder unterirdischen Organen der Wirtspflanze — überdauern. Von 4 Gattungen (*Phytophthora*, *Cystopus*, *Plasmopara* und *Peronospora*) der zu den Peronosporaceen gehörigen Pilze und von 9 Arten der Gattung *Peronospora* sind nunmehr solche überwinternde Mycelien bekannt; weitere Studien dürften diese Zahlen wahrscheinlich vermehren. Das Mycel von *Phytophthora infestans* wächst aus den Knollen durch den Stengel an die Bodenoberfläche, sporuliert hier und führt so zur Blattinfektion, die oft epidemischen Charakter gewinnt. Die Konidien mit ihrem extrem ephemeren Charakter kommen als Dauerformen schwerlich in Betracht, wiewohl sie in Ausnahmefällen unter bestimmten Umständen als solche fungieren können. Neben dem ausdauernden Mycel kommen noch Oosporen als Dauerformen in Betracht, die beim Auskeimen als Zoosporen oder vermittelt Keimschlauch die Neuinfektion herbeiführen. Hat ein Pilz zwei oder mehr einjährige, verschiedene Wirtspflanzen, so kann seine Verbreitung nach Primärinfektion durch Oosporen auf der einen Pflanze, vermittelt Konidien auf die übrigen Pflanzen erfolgen, oder der Pilz ist in der einen Wirtspflanze ausdauernd und verbreitet sich auf die andere Pflanze durch Konidien wie dies z. B. bei *Phytophthora infestans* an Kartoffel und Tomate der Fall ist.

Aus den Versuchen von Melhus<sup>2)</sup> geht schließlich hervor, daß das Mycel von *Phytophthora infestans* im Gewebe der Kartoffelknollen überwintert, bzw. ausdauert und von hier aus in die Sprossen wächst. Das Pilzwachstum wird in trockenen Böden oder bei Temperaturen unter 5° C verzögert, findet sein Optimum bei 23°—27° C in gut bewässerten Böden; unter solch günstigen Bedingungen tritt die Infektion der Sprosse 4—20 Tage nach der Pflanzung auf, diese erforderliche Zeit ist zweifelsohne von äußeren Bedingungen und von der Entfernung des Mycels von der Knospe beeinflusst. Das Mycel bleibt in den im Erdboden ausgelegten Saatkartoffeln mindestens 45 Tage, wahrscheinlich aber viel länger lebensfähig. Daß der Pilz in Blättern und Stengeln von Kartoffelpflanzen kranker Herkunft latent sei, wie Massé behauptet, konnte nicht erwiesen werden. Laboratoriumsversuche haben gezeigt, daß der Pilz von der Knolle in den Stengel wächst, so die Blattoberfläche erreicht und hier sporuliert, wie dies gewöhnlich bei kleinen, verzweigten Schossen eines Pflanzhügels der Fall ist; infolge dieser Sporenbildung tritt die Blattinfektion auf, die oft epidemischen Charakter annimmt, wie in Nord-Maine in der Vegetationszeit der Jahre 1913 und 1914 im Freiland beobachtet wurde. Diese Blattfäule-Infektion verbreitet sich im Anfangsstadium der Epidemie radial von einem einzigen Pflanzhügel oder Schoß als Infektionszentrum aus, das durch den Anbau von infizierten Kartoffeln geschaffen ist. Das Mycel verbreitet sich sehr rasch im Rindengewebe des

<sup>1)</sup> Journ. of Agr. Research. Vol. 5. 1915. p. 59.

<sup>2)</sup> Journ. of Agr. Research. Vol. 5. 1915. p. 71. 5 Taf.

Stengels, wo es aufwärts schneller wächst als nach abwärts. An den Schnittflächen und „Augen“ der feldmäßig ausgelegten Kartoffeln können auch Konidien entstehen, doch nimmt diese Art der Pilzfruktifikation entsprechend der Verkorkung der Schnittwunde bzw. bei Zerfall der Knolle ab. Sporen, welche von Knollen 2—3 Wochen nach der Aussaat genommen wurden, hatten nur eine beschränkte Keimfähigkeit. Daß diese im Boden entstandenen Konidien für die Blattinfektion von wesentlicher Bedeutung wären, konnte durch die ausgeführten Versuche nicht bekräftigt werden.

Gebrüder M e y e r <sup>1)</sup> in Oberwald-Hemishofen bespritzten ihre Kartoffeln mit Kupferbrühe zweimal vom 21.—23. Juni und vom 10.—13. Juli auf der Blattoberseite und eine Parzelle von der Blattunterseite her. Bespritzung von oben allein ist unwirksam, und das Laub war ebenso angegriffen wie das unbehandelte. Die von unten bespritzten Stauden blieben schön grün, um 8—12 Tage länger als die unbehandelten. Der Mehrertrag der so behandelten Parzellen wurde auf 30 Proz. geschätzt.

Milburn und G a u t <sup>2)</sup> veröffentlichten die Ergebnisse ihrer 8 jährigen Versuche zur Bekämpfung der Kartoffelkrautfäule (late blight) durch *Phytophthora infestans* mittels flüssiger und trockener Fungizide. In den meisten Fällen konnte die Ernteeinbuße durch Spritzen verringert werden, besonders wenn der Pilz erst spät im Sommer auftrat. Die Ernte der bespritzten Parzellen hielt sich bei der Aufbewahrung besser als die der unbehandelten. Das Bespritzen kann aber nicht vorbehaltlos empfohlen werden, da die Fungizide in fester oder flüssiger Form auf schweren, bindigen Böden und in der Nähe von Fabrikstädten Laubverkrüppelung und Blattflecken, und im Zusammenhang damit Ernteverminderung verursachen. Bespritztes Laub erhält sich länger als unbespritztes und ergibt eine größere Knollenausbeute mit einem kleineren Prozentsatz brauner Knollen. Sind die Gipfel der Stauden geschädigt, so wird die Ernte beträchtlich vermindert. Es gibt kein wirksames Fungizid, das nicht auch gelegentlich Laub und Ernte schädigen könnte; wenn aber die Krankheit spät auftritt, so werden die etwaigen Gefahren der Fungizidbehandlung durch den erzielten Nutzen bei weitem überwogen. Zweimalige Bespritzung erscheint meist zu gewagt und ist nur bei frühzeitigem Auftreten und bedrohlichem Umsichgreifen des Pilzes am Platze. Im übrigen erscheint eine einmalige späte Bespritzung, sobald die Krankheit auf den empfänglichsten Feldstellen sich zu zeigen beginnt, die besten Erfolge zu haben.

M u r p h y <sup>3)</sup> bringt einen vorläufigen Bericht über seine morphologischen und cytologischen Studien an den Sexualorganen von *Phytophthora erythroseptica*, welche vor nicht langer Zeit als Ursache einer Kartoffelkrankheit beschrieben worden ist.

Nach den neuen Ergebnissen seiner Studien zur Kenntnis der Gattung *Phytophthora* umfaßt nach P e t h y b r i d g e <sup>4)</sup> das bisherige Genus *Phytophthora* zwei Formenkreise, die sich in der Art der Entwicklung der Sexualorgane fundamental voneinander unterscheiden. Demnach wäre das alte Genus *Phytophthora* in 2 Gattungen aufzuteilen: die Arten *P. erythroseptica*, *P. infestans*, *P. phaseoli*,

<sup>1)</sup> La Terre Vaudoise. Jg. 7. 1915. p. 258.

<sup>2)</sup> Agr. Dep. Farmers Bull. 1914. No. 27; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 343.

<sup>3)</sup> Ann. Bot. London. 1914. p. 735; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 33. 1915. p. 53.

<sup>4)</sup> Journ. Econ. Biol. 1914. p. 53; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 442.

*P. colocasiae*, *P. parasitica* und *P. arecae* wären unter dem alten Gattungsnamen *Phytophthora* zu belassen, die übrigen Arten jedoch in das Genus *Nozemia* zu übertragen.

Rieh m<sup>1)</sup> gibt zur Belehrung der praktischen Landwirtschaft eine kurze Beschreibung der Kraut- und Knollenfäule (*Phytophthora infestans* [Mont.] de By.), begleitet von einer trefflich ausgeführten Farbentafel, die die Einzelheiten der Kraut- und Knollenerkrankung charakteristisch wiedergibt. Die Widerstandsfähigkeit der einzelnen Kartoffelsorten gegen die Krankheit ist sehr verschieden, doch sind die dünnchaligen weißen Sorten anfälliger als die dickschaligen roten Sorten; die verschiedene Widerstandsfähigkeit beruht auf noch nicht näher bekannten Unterschieden in der chemischen Zusammensetzung. Um dem Auftreten der Krankheit vorzubeugen, empfiehlt es sich, besonders in feuchten Lagen widerstandsfähige Sorten anzubauen. Wiederholtes Spritzen mit Kupferkalkbrühe verhindert eine Infektion der Blätter oder schränkt sie wenigstens etwas ein. Bei starkem Auftreten der Knollenfäule, müssen alle erkrankten Knollen vor der Einmietung beseitigt werden und im folgenden Frühjahr ist darauf zu achten, daß Knollen mit eingesunkenen blaugrauen Flecken nicht als Pflanzgut Verwendung finden.

Nach Rosenbaum<sup>2)</sup> kann durch *Phytophthora arecae* eine Knollenfäule der Kartoffel hervorgerufen werden, die in gewissem Grade an die durch *P. erythrosepica* verursachte Rotfäule erinnert. Auf Grund des Vergleiches der Maßangaben bei den Oosporen hält Rosenbaum beide Arten für sehr nahe verwandt, wenn nicht gar identisch. Ferner hat Rosenbaum<sup>3)</sup> von den 13 bekannten *Phytophthora*-Arten 10 Arten gesammelt und in Kulturen gezogen. Die Art der Sporenbildung und die Zeit ihres Auftretens in gegebenen Medien ist für die Artunterscheidung charakteristisch; daneben sind selbstverständlich auch morphologische Merkmale für die Taxonomie wichtig. Durch Messungen wurde auf die große Variation der Sporenformen hingewiesen. Nach den Impfversuchen zu schließen, ist der Parasitismus von *Phytophthora* auf ziemlich niedriger Stufe und der Wert der Übertragungsversuche daher zweifelhaft. Als Ergebnis der Arbeit wird eine Tabelle zur Unterscheidung der einzelnen Arten ausgearbeitet.

Im Hinblick auf die im Jahre 1915 möglichst zu steigernden Ernten sollte auch gegen die Krautfäule (*Phytophthora infestans*) der Kartoffel ganz besonders angekämpft werden. Die Station viticole<sup>4)</sup> in Lausanne (Schweiz) schlägt vor, die Kartoffelstauden gegen diesen Pilz durch eine 2 malige Bespritzung vorbeugend zu schützen; die erste Bespritzung ist zu der Zeit, wo die Sprosse ungefähr 20 cm lang sind, die zweite 15—20 Tage nach der ersten auszuführen; in feuchten Jahren fällt der Bekämpfungserfolg besonders ins Gewicht. Als geeignete Spritzapparate sind die im Weinbau üblichen *Peronospora* spritzen, für den Großbetrieb fahrbare Spritzen der Firma I. U. Aebi genannt. Als Spritzflüssigkeiten sind 2 proz. Bordelaiserbrühe (Kupferkalkbrühe), sowie 2 proz. Burgunderbrühe (Kupfersodabrühe) genannt und deren Herstellung genau beschrieben; auch das im Handel unter dem Namen „Cuprosa“ erhältliche Kupferoxy-

<sup>1)</sup> Deutsch. Landw. Presse. Jg. 42. 1915. p. 644.

<sup>2)</sup> Phytopathol. Vol. 4. 1914. p. 387.

<sup>3)</sup> Ebenda. Vol. 4. 1914. p. 394.

<sup>4)</sup> La Terre Vaudoise. Jg. 7. 1915. p. 145.

chlorid oder 1 proz. neutrales Kupferacetat (verdet neutre) können Verwendung finden, sowie verschiedene käufliche kupferhaltige Pulver, die nach Gebrauchsvorschrift einfach in die nötige Wassermenge eingerührt werden. Zum Verstäuben auf die tau- oder regenfeuchten Pflanzen sind Fostit, Sulfosteatit, Sulfostit, Cuprotalcit und Cuprosapulver geeignet. Die in den Jahren 1907 und 1908 in Dänemark ausgeführten Versuche<sup>1)</sup> zur Bekämpfung des Kartoffelschimmels (*Phytophthora infestans*) ergaben, daß der Pilz durch Bespritzen mit einer 1 proz. Kupferkalkbrühe ausreichend bekämpft werden kann. Es wurde durch 2 Bespritzungen eine durchschnittliche Mehrausbeute von 35 hkg auf 1 ha erreicht. Zeit der ersten Bespritzung, je nach den früheren oder späteren Kartoffelsorten, zwischen 1. und 15. Juli; die zweite Bespritzung ist ungefähr 4 Wochen später auszuführen. Für 1 ha werden ca. 1300—1400 l Spritzflüssigkeit benötigt. Bei der Herstellung der Spritzflüssigkeit wird der Kalk entweder in der halben Wassermenge oder in viel weniger Wasser zu Kalkmilch abgelöscht und diese nach und nach und unter Umrühren der Blausteinlösung zugesetzt; statt Kalk kann auch Soda verwendet werden.

Obwohl nach dem gegenwärtigen Stand als bestes Gegenmittel gegen Kartoffelfäule in Neusüdwaales die Bordeauxbrühe gilt, so soll nach neuesten Erfahrungen<sup>2)</sup> in Gegenden von Irland die Burgunderbrühe für diesen Zweck in gewissem Grade überlegen sein; die Herstellungsart letzterer nebst Angabe ihrer Vorteile ist besonders ausgeführt. Die Bespritzung mit Kupfermitteln<sup>3)</sup>, (von den Franzosen als „Sulfatage“ bezeichnet), ist bei mindestens zweimaliger Ausführung zur Vorbeugung gegen die Krautfäule der Kartoffel sehr nützlich; das erstemal, wenn die Laubspresse zirka 20 cm hoch sind, das zweitemal 4 Wochen später. Zum Bespritzen sind die im Weinbau gebräuchlichen Zerstäuber am geeignetsten. Das Spritzen in die volle Blüte wird als unschädlich bezeichnet. Auf 1 ha werden für eine Behandlung 700—800 l Spritzflüssigkeit als nötig erachtet.

#### f) *Rhizoctonia*.

Appl<sup>4)</sup> hat einen auffallend starken Befall der Kartoffeln durch die *Rhizoctonia* pocken gefunden. Wo in einer Wirtschaft einmal von der *Rhizoctonia* befallene Knollen eingeführt wurden, erkrankten im Laufe der Jahre auch alle anderen in der betreffenden Wirtschaft gebauten Sorten. Ferner ist nach seinen Beobachtungen in Mähren eine große Zahl der gebauten Kartoffelsorten von *Spondylocidium atrovirens* Harz befallen.

Drayton<sup>5)</sup> untersuchte mikroskopisch an fixierten und gefärbten Schnitten die für die *Rhizoctonia* fäule charakteristischen, dunkelbraun verfärbten und eingesunkenen Stellen an Stengel und Stolonen der Kartoffelpflanze und fand hierbei das Rindengewebe bis zu einer Tiefe von 3—6 Zellenlagen von kompakten, Sclerotien bildenden Hyphenmassen erfüllt, in den Gefäßbündeln und im Mark aber zahlreiche Mycelfäden verlaufen.

<sup>1)</sup> 56. Meddelelse fra Stat. Forsogsvirksomhed i Plantekult. Ved Statens Plan-teavlsudvalg. 1914.

<sup>2)</sup> Agr. Gaz. N. S. Wales. 1914. p. 48; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 343.

<sup>3)</sup> La Terre Vaudoise. Jg. 7. 1915. p. 225.

<sup>4)</sup> Mitt. d. Mähr. Landw. Landesversuchsstat. in Brünn. 1915. p. 41.

<sup>5)</sup> Phytopathol. Vol. 5. 1915. p. 59.

Hiernach ist es Drayton kaum mehr zweifelhaft, daß der nunmehr als *Corticium vagum* var. *solani* bekannte Pilz der Erreger der *Rhizoctonia*-Fäule ist. Durch Verstopfung der Gefäße mit den Mycel-fäden des Pilzes wird einerseits der Abtransport der in den Blättern gebildeten Reservestoffe in die Knollen erschwert, somit also das Knollenwachstum verringert, andererseits das Aufströmen der Nährstoffe zu den Blättern verhindert, wodurch, besonders in Trockenperioden, ein Abwelken und Blattrollen verursacht wird. Die Gegenwart von *Rhizoctonia sclerotien* in Stengel und Stolonen vermittelt die Neuinfektion des folgenden Anbaues, weshalb peinlichste Säuberung und Verbrennen der kranken Rückstände nach der Ernte angelegentlichst empfohlen wird. Nach Morse und Shapovalov<sup>1)</sup> ist im Staate Maine die durch *Rhizoctonia solani* oder *Corticium vagum* var. *solani* verursachte Kartoffelkrankheit weit verbreitet, aber erst dann erkannt worden, als ernste Schäden durch ungleichen Stand der Kulturen, niedere Erträge und vorzeitige Reife vielfach beobachtet wurden. Feldstudien und Gewächshausversuche haben die Krankheit erforscht und Richtungen für die Bekämpfung gewiesen. Formaldehyd- oder Sublimatlösungen zerstören die Sclerotien des Pilzes. Kalk, der ebenfalls als Bekämpfungsmittel vorgeschlagen wurde, hatte bei Topfversuchen wenig Erfolg. Als anfällige Sorten wurden Irish Cobbler und Green Mountain erkannt. Zur Bekämpfung wird Sublimatbeize des Saatgutes und langjähriges Unterlassen des Kartoffelbaues auf verseuchten Böden empfohlen.

Peltier<sup>2)</sup> hat anlässlich seines Studiums der durch *Rhizoctonia* verursachten Stengelfäule der Nelken zirka 50 Formen dieses Pilzes beobachtet. Nach 3 jährigen Erfahrungen über diese Kulturen fand er trotz geringfügiger morphologischer Unterschiede das Verhalten nahezu aller Pilzformen bei Kreuzüberimpfung gleich und kommt zu der Annahme, daß, mit Ausnahme zweier Formen, alle übrigen beobachteten Arten als *Rhizoctonia solani* Kühn zusammengefaßt werden können. Die echte *Rhizoctonia violacea* Tul. aus Europa ist aus dem Gebiete Peltiers nicht bekannt. Es erscheint außer Frage, daß *Hypochnus solani* Prill. und Del. aus Europa mit *Corticium vagum* B. u. C. var. *solani* Burt. identisch ist.

#### g) *Colletotrichum*.

Über eine durch eine neue *Colletotrichum* sp. verursachte Krankheit an den unterirdischen Stengelteilen der Kartoffel in Salt Lake Valley, Utah, bringt O'Gara<sup>3)</sup> eine vorläufige Mitteilung. Das Auftreten der Krankheit in der genannten Gegend scheint von ökonomischer Bedeutung zu sein. Die auf den verseuchten Feldern untersuchten Pflanzen zeigten an den unterirdischen Stengelteilen dunkelbraune oder schwarze Krebsstellen und Verwundungen, welche, oft knapp unter der Bodenoberfläche beginnend, bis zu den Knollen sich erstrecken oder den Untergrundstengel völlig umgürteln. Der Erreger wurde isoliert und auf Kartoffel, Karotte, Zuckerrübe, Reis, Maismehl und neutralem Agar im Laboratorium gezüchtet; es sind ferner eine Anzahl morphologischer und biologischer Daten des Pilzes angeführt, der als neue *Colletotrichum*-Art angesprochen werden soll. Nach

<sup>1)</sup> Maine Stat. Bull. 1914. p. 193; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 147.

<sup>2)</sup> Phytopathol. Vol. 4. 1914. p. 406.

<sup>3)</sup> Ebenda. Vol. 4. 1914. p. 410.

weiteren Mitteilungen von O'Gara<sup>1)</sup> greift *Colletotrichum solanicolum* n. sp. meistens die unter der Erde wachsenden Zweige der Solanaceen an und wächst selten auf dem über der Bodenfläche gelegenen Teile des Stengels. Manchmal entwickeln sich gewisse dunkelbraune oder schwarze Brandstellen, die etwas den durch *Rhizoctonia* hervorgerufenen ähneln. Das Mycelium des Pilzes überzieht zuerst die Rinde unter der Epidermis, hat anfangs ein durchsichtiges und wenig zellenartiges Aussehen, wird dann braun, vielzellig und gruppiert sich derartig, daß genau unter der Epidermis, aus welcher die Haare und fruchtbaren Fasern hervorkommen, Verhärtungen ähnliche Körper gebildet werden. Sobald der Stengel abstirbt, löst sich die Epidermis ab und die dunkelbraunen oder schwarzen, Verhärtungen ähnlichen Körper liegen bloß. Der Pilz wurde auch während kurzer Zeit im Laboratorium gezüchtet und pflanzte sich hier in charakteristischer Weise fort.

#### h) *Vermicularia*, *Verticillium* und *Fusarium*.

Ethel Doidge<sup>2)</sup> hat auf einigen Versuchsparzellen in Prätoria das Auftreten von *Vermicularia varians* Duc., der bis dahin noch nicht in Südafrika gefunden worden ist, festgestellt. Der Pilz wurde von Ducomet im Jahre 1909 zuerst beschrieben. Verfasserin schlägt in Übereinstimmung mit Mac Alpine für die von dem Pilz auf Kartoffeln hervorgerufene Krankheit den Namen „Black Dot Disease“ (schwarze Fleckenkrankheit) vor, der das Aussehen der befallenen Pflanze sehr gut kennzeichnet. Die Krankheit trat auf, als die Kartoffeln eben zu blühen begonnen hatten, Der Stengel verliert seine frische grüne Farbe, die unteren Blätter fallen ab, die Pflanze biegt sich zur Erde, da der untere Stengelteil zuerst angegriffen wird, dann verbreitet sich die Krankheit auf die oberen Stengelteile und die unterirdischen Pflanzenteile, schließlich wird die Pflanze ganz braun, trocken und spröde, wobei die Oberfläche des Stengels mit kleinen schwarzen und für die Krankheit charakteristischen Punkten bedeckt ist. Später finden sich die schwarzen Punkte auch auf den Blättern und den Blattstielen. Wenn der Stengel austrocknet, so wird er hohl, die schwarzen Punkte bilden sich auch im Innern des Stengels, aber nur im unterirdischen Stengelteil, und von dort verbreiten sie sich auf die unterirdischen Verzweigungen und gelangen so auf die Knollen. Wird die Pflanze angegriffen, ehe die Knollen vollständig ausgebildet sind, so werden sie nicht mehr normal groß und reifen auch nicht. In den beobachteten Fällen erreichten sie nur Nußgröße. Wenn aber auch die Ernte der kranken Pflanzen befriedigt, so sind doch die scheinbar gesunden Knollen fast immer sicher angesteckt und man kann sogar oft bei frischen Knollen die Epidermis mit schwarzen Pünktchen bedeckt finden, namentlich dann, wenn die Knollen etwas ausgetrocknet sind und die Oberfläche rauh geworden ist. Vielfach ist zur Konstatierung eine mikroskopische Untersuchung notwendig. Wenn diese Pünktchen auch das sichtbarste Anzeichen für das Auftreten der Krankheit bilden, so stellen sie aber nur einen einzigen Zustand in der Lebensgeschichte des Pilzes dar. Es bilden sich zuerst am Stengel kleine weiße Horste von Mycelfäden, die zahlreiche durchsichtige Konidien tragen, die minder gesunde Pflanzen anstecken können.

<sup>1)</sup> Mycologia. Vol. 7. 1915. p. 38; durch Intern. Agrar-Techn. Rundsch. Jg. 6. 1915. p. 830.

<sup>2)</sup> The Agricult. Journ. of the Un. of So. Africa. Vol. 7. 1914. p. 879; durch Intern. Agrar-Techn. Rundsch. Jg. 6. 1915. p. 516.

Unter diesen Horsten unter der Epidermis bilden sich kleine, feste, braune Mycelmassen, die die Sclerotien des Pilzes darstellen und mit zahlreichen fadenförmigen, geraden braunen Anhängseln versehen sind, die manchmal vom Grund nach der Spitze sich verjüngen. Die Sclerotien dringen schließlich durch die Epidermis auf die Oberfläche des Stengels, wo sie dann der Pflanze das eigentümlich punktierte Aussehen geben. Nach *Ducomet* bilden die Sklerotien schließlich Pykniden, doch wurde dieser Pilzzustand in Südafrika nicht beobachtet. Die erste und gewöhnliche Wirkung des Pilzes ist das Austrocknen der Endteile der Pflanze; tritt dieser Zustand ein, wenn die Knollen reif geworden sind, so entwickeln sie sich nicht mehr weiter. Die Knollen sehen wohl gesund aus, benützt man sie aber zum Weiterpflanzen, dann dringt das Mycel in die jungen Knollen ein und zerstört sie. Auch die nach der Ernte von kranken Kartoffeln möglicherweise im Boden verbliebenen Sclerotien können im nächsten Jahre ansteckend wirken. Zur Bekämpfung der Krankheit müssen alle trockenen Stengel gesammelt und verbrannt werden. Die von kranken Pflanzen stammenden Kartoffeln dürfen nicht als Saatgut benutzt werden. Auf befallenen Feldern sollen nicht wieder Kartoffeln angepflanzt werden. Diese Felder können nur zum Anbau solcher Pflanzen dienen (auch Tomaten sind auszuschließen), die von dem Pilz nicht befallen werden, da man die Dauer der Lebensfähigkeit der Sclerotien noch nicht kennt. Bemerkt sei noch, daß *Ducomet* die Krankheit mit dem Namen „Dartrose“ (Flechtenkrankheit) belegt hat. *Massee* nannte sie im Jahre 1910, da sie zuerst in Frankreich entdeckt wurde, „French Potato Scab“ (französischer Kartoffelschorf).

Zur Frage der *Verticillium*-Welkekrankheit äußert sich *Carpenter*<sup>1)</sup> in einer auszugsweisen Notiz; derartige, durch *Verticillium* verursachte Welkeerscheinungen sind bisher bei Kartoffel, Eibisch („*Okra*“), Eierpflanze, Löwenmaul („*Snapdragon*“) und *Dahlia* beobachtet worden, u. zwar bei den 3 erstgenannten Wirtspflanzen durch *V. albo-atrum* Reinke und Berth., bei *Dahlia* durch *V. dahliae* Kleb. verursacht. Die gemeinste Welke des Ginseng (*Panax quinquefolium*) wird einem *Acrostalagmus* sp. zugeschrieben. Die *Verticillium*- und *Fusarium*welkekrankheit sind symptomatisch einander sehr ähnlich und sind, falls beide auf derselben Wirtspflanze vorkommen, nur in künstlichen Kulturen zu unterscheiden. *Verticillium albo-atrum* ist wahrscheinlich auch die Ursache zweier bei Arlington (Virginia), beobachteter Fälle von Welkekrankheit bei Baumwolle und ist gleicherweise Gefäßparasit von *Abutilon* und *Xanthium*. Hinsichtlich der sicheren Artidentifizierung im Genus *Verticillium* ist eine monographische Studie nötig.

Mit verschiedenen, durch *Fusarium*arten verursachten Fällen von Knollenfäulnis der Kartoffel beschäftigten sich die eingehenden Studien von *Carpenter*<sup>2)</sup>. Die untersuchten Formen gehören alle dem Typus der Stammendfäule und der Wundparasiten an. *Carpenter* kommt zu der Ansicht, daß in vielen Fällen die Artunterscheidung der in Betracht kommenden *Fusarium*arten nur durch die Kulturmethode sicher möglich ist. Die untersuchten Arten ergaben beim Temperaturminimum eine langsam verlaufende Trockenfäule, die sich aber im Temperaturmaximum bis zu einer raschen Naßfäule steigerte, die binnen 2—3 Wochen zur völligen

<sup>1)</sup> Phytopathol. Vol. 4. 1914. p. 393.

<sup>2)</sup> Journ. of Agr. Res. Vol. 5. 1915. p. 183. 8 Taf.



Verflüssigung der Knolle führte. Die durch *Fusarium* sp. allein verursachte Kartoffelfäule erinnert im Geruch an Ammoniak und Trimethylamin. Die Kultur- und Impfversuche, welche sich über ein Jahr ausdehnten, lassen *Fusarium martii*, *F. solani*, *F. moniliforme*, *Verticillium albo-atrum*, *Sporotrichum flavissimum* und je eine Art von *Mucor* und *Rhizoctonia* unter gewöhnlichen Verhältnissen zumeist nur als Saprophyten gelten, während *Fusarium oxysporum* und *F. hyperoxysporum*, *F. radicicola* (als Erreger einer Trockenfäule und der Gallertfäule) und eine neue, als *F. eumartii* bezeichnete Art, nach Wundinfektion, echte Fäulniserreger sind; letztgenannte Art verursacht durch Trockenfäule ernste Schäden seit den letzten 2 Jahren in Pennsylvania. Die Stammend- und Trockenfäule durch *F. radicicola* ist in den Vereinigten Staaten von Amerika weit verbreitet. Bei der Gallertfäule („jelly-end-rot“), die in den Deltaländern Californiens und in den Überflutungsteilen von Oregon und Idaho jährlich bedeutende Ernteverluste verursacht, sind *F. radicicola* und *F. oxysporum* zwar meist vergesellschaftet, doch scheint die erstgenannte Art der eigentliche Erreger zu sein. *F. oxysporum* und *F. hyperoxysporum*, die bisher nur als Gefäßparasiten bezeichnet wurden, können die Knollen vollständig zerstören. *F. oxysporum* ist der Erreger gewisser Knollenfäuletypen. Die durch *F. radicicola* verursachte Fäulnis hat ihr Temperaturminimum bei 12° C. Eine ständige Mientemperatur unter 50° F (10° C) beugt der Fäulnis durch *F. radicicola*, *F. eumartii* und *F. oxysporum* vor. In taxonomischer Hinsicht werden *F. solani* (Mart.) Sacc., *F. coeruleum* (Lib.) Sacc., *F. eumartii* n. sp. und *F. radicicola* Wollenw. zur Sektion *Elegans* und *F. discolor*, var. *sulphureum* (Schlecht.) App. et Wollenw., sowie *F. trichothecioides* Wollenw. zur Sektion *Discolor* gestellt und eingehend gekennzeichnet.

#### i) Blattrollkrankheit und Kräuselkrankheit.

Appel<sup>1)</sup> bespricht jene Kartoffelkrankheiten, für welche das Symptom des Blattrollens (leaf-roll) charakteristisch ist. Das Blattrollsymptom tritt überall dort auf, wo vorübergehend (Welken) oder dauernd die Transpiration des Blattes seine Wasserzufuhr übertrifft. Dieses Wassergleichgewicht kann durch äußere Einflüsse auf das Wurzelsystem, durch chemische Veränderungen in der Pflanze oder durch Desorganisation des Gefäßsystems verursacht sein. Die besprochenen Krankheiten sind übersichtlich einander gegenübergestellt: I. Kräuselkrankheit, II. Blattrollkrankheiten: 1. Nicht parasitär: Blattrollkrankheit, 2. Parasitär: A. Gefäßkrankheiten: a) durch Pilze: Welkekrankheit, b) durch Bakterien: Ringkrankheit; B. Fußkrankheiten: a) durch Pilze: *Rhizoctonia* fäule, b) durch Bakterien: Schwarzbeinigkeit. Die Kräuselkrankheit, durch Verkürzung der Stengelglieder, Blattverkräuselung infolge Verkürzung der Blattmittelrippe und durch geringeren Kartoffelertrag charakterisiert, ist nur sporadisch beobachtet worden und ermangelt des epidemischen Charakters. Die Streifenkrankheit (streak-disease), welche mit der Kräuselkrankheit von Frank (1897) unter der zusammenfassenden Bezeichnung „Staudenkrankheiten“ beschrieben worden ist, durch schwarze Streifen an Stengel und Blattrippen gekennzeichnet, scheint bak-

<sup>1)</sup> Phytopathol. Vol. 5. 1915. p. 139.

terieller Natur zu sein, ist aber noch nicht näher erforscht und ihre Übertragung durch das Saatgut noch nicht erwiesen. Die Blattrollkrankheit ist an den nach aufwärts, parallel der Mittelrippe eingerollten, zuweilen gelblich-grün oder violett (nach Varietäten und Jahren verschieden) verfärbten Blättern, an dem steiferen Aussehen der ganzen Pflanze, Kleinheit der Blüten und Beeren, sowie an dem geringeren Kartoffelertrag kenntlich. Die Verarbeitung der Reservestoffe in den kranken Kartoffeln erfolgt viel langsamer als in gesunden, daher die Langlebigkeit der Saatknollen für diese Krankheit bezeichnend ist. Hedlunds Erklärungsversuch, daß die Blattrollkrankheit nur eine krankhafte Mutation sei, hat manches für sich, entbehrt aber bisher experimenteller Begründung. Die ökonomische Bedeutung der Blattrollkrankheit ist groß; Kolorado büßte  $\frac{1}{4}$  seiner Ernte ein. In Deutschland wird durch Feldinspektionen und Saatgutkontrolle dem Überhandnehmen der Krankheit wirksam vorgebeugt. Die durch *Fusarium* und *Verticillium* bedingten, parasitären Blattrollkrankheiten sollten nach dem Vorschlag österreichischer Pathologen als Gefäßmykosen von der nicht parasitären Blattrollkrankheit unterschieden werden. Die von Smith beschriebene Welkekrankheit (wilt-disease), das Prototyp einer Gefäßmykose, ist in den Vereinigten Staaten von Amerika weit verbreitet und schädigt zuweilen 70—80 Proz. der Pflanzen. In leichteren Fällen und bei hoher Luftfeuchtigkeit ist das Blattrollen nur auf die obersten Teile der Pflanze oder auf einzelne Triebe beschränkt. Das untrüglichste Kennzeichen aber ist die Braunverfärbung der Gefäßbündel in Stengel, Stolonen und Knollen bei Vorhandensein eines Pilzmycels. Neben *Fusarium oxysporum* und *Verticillium albo-atrum* dürften noch andere Pilzarten als Erreger ähnlicher Erscheinungen in Betracht kommen. In Amerika scheint die Welkekrankheit für die künstlich bewässerten Distrikte von besonderer Bedeutung zu sein, so wie sie ja auch in Deutschland in trockenen Gebieten und Jahren mehr hervortritt; ihre Bedeutung dürfte mit der Frage nach der besten Wasserversorgung aufs engste verknüpft sein. Unter den Bakteriosen mit Blattrollerscheinung wird die von Spieckermann und Kothoff jüngst beschriebene, durch *Bacterium sepedonicum* verursachte Krankheit näher beschrieben. Die Spiralgefäße zeigen sich mit diesem Bacterium erfüllt, das allmählich die Gefäßwand auflöst und das angrenzende Schwammgewebe zu saftreichen Höhlungen desorganisiert. Die Verbreitung erfolgt durch Saatknollen. Anhaltende Dürre beschleunigt das Blattrollen und Verdorren der Blattränder. Die von derartig erkrankten Pflanzen stammenden Saatknollen zeigen manchmal dunkel verfärbte Stellen im Gefäßring (Ringkrankheit). Als Mykose, die als „Fußkrankheit“ die unterirdischen Stengelteile befällt, wird die durch *Rhizoctonia solani* verursachte Krankheit erörtert, die junge Kartoffelpflanzen gänzlich zerstört oder an älteren Pflanzen neben Faulstellen am Stengelgrund Blattrollen erzeugt. Saatgutbeize mit Sublimat gegen Mycel und Sclerotien in der Saatkartoffel erscheint von geringem Wert, da der Pilz im Erdboden allgemein verbreitet ist und z. B. in einem frisch aufgebrochenen, gut durchlüfteten Waldboden Deutschlands sich besonders stark entwickelte. Als Erreger der bakteriösen Fußkrankheiten, zu denen auch die Schwarzbeinigkeit gehört, werden *Bacterium phytophthorum*, *B. atro-septicum*, *B. solaniasaprum* und *B. xanthochlorum* genannt. Während die Pilze die Zellwände ihres Wirtsgewebes durchdringen, lösen die Bakterien die Mittelwände des befallenen Gewebes auf. Es gibt auch Bakterien, die

den Kartoffelstengel verjauchen, ohne ihn zu schwärzen. Trockene Erntewitterung im Herbst und trockene Aufbewahrung der Knollen reduzieren die Bakteriosen, welche in Amerika nur im feuchteren Nordosten zuweilen von Bedeutung sind, im feuchteren Klima Deutschlands aber mitunter große Ernteverluste verursachen. Schließlich wird noch auf eine neue Kartoffelkrankheit hingewiesen, die Appel gelegentlich seiner Amerikareise zum erstenmal beobachtete, eine mit Blattrollen verbundene Gefäßmykose, bei der nach Stackmann (St. Paul) eine Fusariumart in den Primärgefäßen (Spiral- und Ringgefäßen) zu finden ist. Gefäßmykosen und -Bakteriosen sind beim Zerteilen der Saatkollen an der Verfärbung des Gefäßringes zu erkennen; das Vorhandensein der Schwarzbeinigkeit wird auf diese Weise nur bei sehr schweren Fällen, Blattroll- und Kräuselkrankheit so überhaupt nicht, sondern nur während der Vegetationsperiode auf dem Felde mit Sicherheit erkannt. Dem letzteren Zweck dienen die in Europa eingerichteten Feldinspektionen, welche über besonderen Wunsch der Züchter den Gesundheitszustand ihrer Kartoffeln während der Blütezeit begutachten. Ein Zertifikat wird nur im Falle ausgefolgt, als weniger als 5 Proz. der Pflanzen krank sind und der Züchter verhalten, diese kranken Pflanzen zu entfernen, was durch eine nachträgliche Besichtigung wieder kontrolliert wird. Dieses Inspektionssystem soll auch in den bedeutenderen Kartoffelgebieten der Vereinigten Staaten (Maine, Wisconsin usw.) aufgenommen werden. Die der besprochenen Krankheiten verdächtigen Kartoffeln sollen nie als Saatgut verwendet werden, sondern nur technischen oder Futterzwecken dienen.

Doby und Bodnár<sup>1)</sup> haben sich in Fortsetzung der biochemischen Untersuchungen über die Blattrollkrankheit mit der Amylase blattrollkranker Knollen beschäftigt. Die Amylase der Knollen ist ein ziemlich empfindliches Enzym, dessen Optimum bei 40° C liegt, während es bei 100° C gänzlich zerstört wird. Von besonderem Interesse für das Studium blattrollkranker Knollen war der Umstand, daß die amylytische Wirkung des Preßsaftes der Knollen beim antiseptischen Aufbewahren infolge von Autolyse eine Verstärkung erfährt. Die Versuche mit einem sorgfältig ausgesuchten Material wurden in zweierlei Richtungen geführt, indem einmal untersucht wurde, in welchem Maße sich die Konzentration der Amylase in den Knollen selbst verändert und weitere Untersuchungen bedrafen die Änderungen der Amylasenkonzentration beim antiseptischen Aufbewahren der amylasshaltigen Preßsäfte. Die Versuche, auf die verwiesen werden muß, führten zu dem Schlusse, daß die Amylase in der Kartoffelknolle teilweise als Zymogen vorhanden ist, welches fortwährend allmählich in den aktiven Zustand übergeht; dieselbe Umwandlung verläuft jedoch viel rascher beim antiseptischen Aufbewahren des Kartoffelsaftes. Aufgabe weiterer Versuche wird sein, die Ursachen der Umwandlung des Zymogens in Enzym zu bestimmen. Die Kartoffelamylase ist ziemlich empfindlich. Daraus erklärt sich der Umstand, daß, je stärker die ursprüngliche Aktivität des frischen Kartoffelsaftes ist, um so weniger sich dieselbe beim antiseptischen Aufbewahren verstärkt, bzw. um so rascher die amylytische Aktivität verschwindet. So lange nämlich der Saft wenig Enzym und viel Zymogen enthält, langt letzteres nicht bloß zur Ergänzung der empfindlichen, rasch zugrunde gehenden Amylase aus, sondern es bildet sich aus dem Zymogen noch ein Überschuß an Amylase, was dadurch zum Ausdruck kommt, daß sich die Wirkung der Amylase steigert. Gegen das

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 25. 1915. p. 1.

Frühjahr zu vermindert sich wieder die Menge des Zymogens allmählich, da der größte Teil desselben nun schon als fertige Amylase vorhanden ist. Daher ist nun auch die Aktivität des frischen Preßsaftes der Knollen höher; sie steigert sich aber indessen wenig oder gar nicht mehr und nimmt sogar rasch ab. Da nämlich wenig oder gar kein Zymogen mehr vorhanden ist, so kommt die Zersetzung der fertigen Amylase vollauf zum Ausdruck. Diese Versuche erklären auch die Beobachtungen Müller-Thurgau, wonach sich in Kartoffeln infolge von Abkühlung um so leichter Zucker bildet, je weiter die Ruheperiode vorgeschritten ist. Aus den Versuchen von Doby und Bodnár geht weiter hervor, daß die Größe der Aktivität frischer Preßsäfte weder für die Sorte noch für die Herkunft der Kartoffel bezeichnend ist, sondern jedenfalls von verwickelteren Umständen abhängt, deren Aufklärung späteren Untersuchungen vorbehalten bleibt. Die Größe der Aktivität der Amylase ist fast unabhängig von der Größe der Knollen. Schließlich konnte festgestellt werden, daß im allgemeinen in gesunden Knollen mehr Zymogen vorhanden ist, als in kranken Knollen. Dieser Befund steht mit der Tatsache, nach welcher in Knollen von kranken Pflanzen stets weniger Stärke vorhanden ist, als in jenen gesunder Pflanzen, keineswegs in Widerspruch, sondern im Gegenteil im Einklang mit den früheren Folgerungen. Es ist nämlich nach Doby mit vollem Recht anzunehmen, daß der geringere Gehalt an Stärke kranker Knollen durch die stärkere Oxydationswirkung bedingt ist, welche im Sinne der Palladin'schen Pflanzenatmung mittelbar die Konzentration des Zuckers herabsetzend, hierdurch eine stärkere Lösung der Stärke verursacht, etwa wie eine Saugvorrichtung an dem weit entlegenen anderen Ende des Saugrohres. Leider gelang es bei den vorliegenden Versuchen noch nicht, ein absolut chemisches Merkmal der Krankheit ausfindig zu machen. Dagegen wurde aber die Hypothese Soraues von den enzymatischen Störungen durch neue Tatsachen gestützt. Es wurde hierdurch auch abermals ein Beweis dafür erbracht, daß mit den durch Appel, Kornauth und Köck und Himmelebaur festgestellten mykologischen und den von Quanjér gefundenen histologischen Merkmalen chemische Veränderungen einhergehen. Nach der Ansicht von Massee ist in den hochgezüchteten Kartoffeln weniger Amylase vorhanden als in den nicht veredelten, ein Umstand, der dann eine geringere Widerstandsfähigkeit der jetzigen Kartoffelsorten zur Folge haben sollte. Nach den Befunden von Doby und Bodnár ist aber diese Auffassung kaum stichhaltig, da hieraus folgen müßte, daß die kranken Knollen eine geringere Amylasekonzentration aufweisen müßten, als die gesunden, was jedoch nicht der Fall ist. Es war allerdings ein relativer Überschuß an Zymogen der Amylase festzustellen, was eben darauf hinweist, daß diese Verhältnisse viel verwickelterer Natur sind. Weitere Forschungen müßten sich mit der Frage beschäftigen, ob die chemischen und biochemischen krankhaften Veränderungen die Folge oder die Ursache der parasitischen Ansiedelungen seien und weiter, inwiefern das Optimum und die Aktivierbarkeit der Amylase in gesunden und kranken Knollen verschieden sind.

Um der Verbreitung der Blattrollkrankheit entgegenzutreten, erscheint es nach Mahner<sup>1)</sup> geboten, den Kartoffelmassenanbau von der Gewinnung der Saatknollen zu trennen. Zu diesem Zwecke sollten Saatgutvermehrungsfelder angelegt werden, auf welchen nur Knollen zum Anbau gelangen, die durch Staudenauslese gewonnen worden sind, also mit Sicherheit gesunden

<sup>1)</sup> Österr. Agrar-Zeitg. Jg. 6. 1915. p. 300.

Pflanzen entstammen. Ferner hat die Überwinterung der Knollen in sachgemäßer Weise zu erfolgen. Ein weiterer Punkt ist die tunlichste Vervollkommung des gesamten Kartoffelbaues, unter Abstellung sämtlicher Kulturmaßnahmen, die der Krankheit irgendwie Vorschub leisten; hierher gehören: Wahl eines ungeeigneten Bodens, mangelhafte Bodenbearbeitung, unzweckmäßiges Düngungs- und Saatverfahren (Verwendung geschnittener Saatknohlen) und nicht entsprechende Fruchtfolge. Alle Kulturmaßnahmen müssen dahin zielen, einen geschlossenen Stand des Krautes herbeizuführen, durch den die kranken und daher unvollkommen entwickelten Stauden so unterdrückt werden, daß ihre Knollen nicht mehr für die Saat in Betracht kommen; auch mit der Selbstverträglichkeit der Kartoffel darf kein Mißbrauch getrieben werden.

Schander hält es nach seinen Untersuchungen nicht für ausgeschlossen, daß die Fäule der Kartoffeln in einem gewissen Verhältnis zu dem Gesundheitszustand einer Sorte (Blattrollkrankheit und ähnliche Krankheitserscheinungen) steht. Diese Ansicht gibt Ahr, Mayr und Wörle<sup>1)</sup> Veranlassung über Beobachtungen zu berichten, die in den Jahren 1913 und 1914 auf dem Versuchsfelde der landwirtschaftlichen Akademie Weihestephan gemacht worden sind und sich mit der Frage der Erntehöhe, Knollenfarbe und Blattrollkrankheit der Kartoffeln in Beziehung zu Boden und Düngung beschäftigten. Auf den Inhalt der umfangreichen Arbeit muß verwiesen werden, hervorgehoben sei nur folgendes: Zwischen dem Auftreten von Rollerscheinungen an den Blättern und zwischen der Verfärbung der Kartoffelschale scheinen keine Beziehungen zu bestehen, da beide Vorgänge unabhängig voneinander verlaufen können und in keinem ursächlichen Zusammenhang stehen. Extrem und physikalisch ungünstig zusammengesetzte Böden, die namentlich frei oder außerordentlich arm an Humussubstanzen sind, sagen der Kartoffel (speziell der Sorte Wohltmann) nicht zu; die Produktionskraft wird stark vermindert, die Stauden werden kümmerlich und neigen bei ungünstigem Zusammenwirken von Boden und Witterung zum Auftreten von Blattrollkrankheit und ähnlichen Krankheitserscheinungen. Auf die Bedeutung einer guten Bodenbearbeitung und der Humusversorgung des Kartoffellandes durch Stallmist- und Gründüngung für die Verhütung des Auftretens der Blattrollkrankheit hat schon namentlich Hiltner wieder hingewiesen.

Bei der Blattrollkrankheit hängt die relative Erkrankung der Pflanzen, wie Zimmermann<sup>2)</sup> beobachtet hat, von der jeweiligen Jahreswitterung sowie den übrigen Anbau- und Ernährungsbedingungen ab. Bei den Sorten Bruce und Wohltmann wurde, obwohl ein Fehler bei der Auslese ausgeschlossen war, der Übergang aus der gesunden zur blattrollkranken Form (Stauden blieben kleiner und zeigten den gleichen starren Wuchs wie die blattrollkranke Form) bemerkt.

Gegen die Blattrollkrankheit und die Kräuselkrankheit der Kartoffel<sup>3)</sup> wird in erster Linie sorgfältige Auswahl von gesundem Saatgut, die mit Sicherheit nur während der Vegetationsperiode durch Beurteilung der grünen Kartoffelstauden ermittelt werden kann, empfohlen. Sortenauslese für die Nachzucht sollte auf eigens dafür reservierten kleineren Parzellen betrieben werden; so könnten durch systematische Saatgutwahl fast immune Sorten

<sup>1)</sup> Fühlings Landw. Zeitg. Jg. 64. 1915. p. 425.

<sup>2)</sup> Mitt. d. Landw. Versuchsstat. Rostock. 1915. p. 81.

<sup>3)</sup> La Terre Vaudoise. Vol. 7. 1915. p. 197.

allmählich erzüchtet werden. Als Vorbeugemittel kommen alle wachstumsfördernden Mittel, wie entsprechende Bodenauswahl, Bodenverbesserung durch Drainage und rationelle Düngung in Betracht. Ungünstige Bodenverhältnisse steigern die Anfälligkeit gegen Krankheiten und führen zur Degeneration der Sorten, wobei das Blattrollen schließlich zum erblichen Zustand werden kann. Der Pilz, der durch Rißwunden in die Stolonen eindringt, hindert bei seiner starken Entwicklung die Saftströmung in der Pflanze. Kranke Knollen atmen im Winter stärker als gesunde unter dem Einflusse spezifischer Diastasen.

Nach dem Vorgange von S o r a u e r, G r ü ß, D o b y, B e r t r a n d, D o n y-H é n a u l t u. a., welche die enzymatischen Störungen kranker Pflanzen näher untersuchten, ermittelt B u n z e l <sup>1)</sup> die Oxydasen kräuselkrank verzweigter (curly-dwarf) Kartoffelpflanzen im Gegensatz zu gesunden. Im allgemeinen waren in kranken Knollen größere Mengen von Peroxydase, Oxygenase und Tyrosinase nachzuweisen, als in gesunden. Blätter von kräuselkranken Zuckerrüben enthielten 2—3 mal soviel Oxydasen als normale; dieselben Unterschiede ergaben sich, wenn das Wachstum aus anderen Gründen als durch Kräuselkrankheit verzögert war. Die mit zahlreichen Tabellen und Kurvenbildern erläuterte Arbeit zeigt die mittels verschiedener Reagentien (Benzidin, Pyrogallol, Alphanaphthol, Leucobase von Malachitgrün, Phloroglucin, Aloin, Pyrocatechol, Tyrosin, Hydrochinon, Phloridzin, Resorcin, Guajacol, Orthocresol, Metacresol, Paracresol, Orthotoluidin, Metatoluidin und Paratoluidin) ermittelten Oxydasenunterschiede im Preßsaft von Sprossen, Stengeln und Blättern gesunder und kranker Kartoffelpflanzen, die von praktisch möglichst gleichartiger Herkunft ausgewählt worden waren. In normalen Pflanzen ist die Oxydasenaktivität am größten in den frühen Entwicklungsstadien, sinkt während des Wachstums der Pflanze und steigt wieder an, wenn das Wachstum der Pflanze seinen Stillstand erreicht hat; es ergibt sich somit eine direkte Parallele zwischen der physiologischen Aktivität (gemessen an der Respirationsgröße) und der Oxydasenmenge; der Stengel verhält sich relativ inaktiv, die Blätter hingegen wiesen den größten Oxydasengehalt auf. Bei Verzögerung des Wachstums durch Kräuselkrankheit oder durch andere Faktoren ergibt sich eine Zunahme von Oxydasen. Der Preßsaft von Knollen und Blättern kräuselkranker Kartoffel zeigt eine größere Oxydasenaktivität als bei gesunden Pflanzen. B u n z e l vermutet, daß im kräuselkranken Gewebe die Zellrespiration viel intensiver ist und vergleicht diesen Zustand mit dem animalischen Fieber.

### C. Physiologie und atmosphärische Schädigungen.

Auf die Abhandlung von B a r t h o l o m e w <sup>2)</sup> „Pathologische und physiologische Untersuchungen über die schwarze Herzfäule der Kartoffelknollen“ kann nur verwiesen werden. D o b y <sup>3)</sup> hat sich mit der Untersuchung der Invertase der Kartoffelblätter, über die noch nichts bekannt ist, beschäftigt und einige experimentelle Beiträge gegeben. Die Untersuchungen sind nur vorläufiger Natur und sollen weiter fortgesetzt werden. Die Anwesenheit der Invertase in den Blättern der Kartoffel konnte bewiesen werden.

Hinsichtlich der vorzugsweise auf Magnum bonum und Julikartoffel beobachteten Blattrollkrankheiten bemerken L i n d, R o s t r u p und

<sup>1)</sup> Journ. of Agr. Res. Vol. 2. 1914. p. 373.

<sup>2)</sup> Vorliegende Zeitschrift. Abt. II. Bd. 43. 1915. p. 609.

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschr. Bd. 71. 1915. p. 495.

Kolpin Ravn<sup>1)</sup>, daß die erste Infektion im Mai bis Juni stattfindet und daß kranke Knollen wieder kranke Pflanzen liefern. Tongehalt des Bodens, Dichtigkeit u. a. Bodeneigenschaften begünstigen das Auftreten der Krankheit. Mosaikkrankheit wurde auf Julikartoffel und Sharpes Victor angetroffen, scheint aber auf späten Sorten selten zu sein.

Das phytopathologische Laboratorium „Willie Commelin Scholten“<sup>2)</sup> hat die Untersuchungen über die Mosaikkrankheit mit dem Ergebnis fortgesetzt, daß äußere Umstände für die Krankheit außer Betracht kommen und die künstliche Übertragung auf gesunde Knollen nicht gelungen ist. Die Ertragsunterschiede zwischen gesunden und kranken Pflanzen werden für das Jahr 1912 mit 1484 g zu 794 g im Mittel für eine Staude angegeben. Eine extreme Form der Mosaikkrankheit ist unter der Bezeichnung „Gänsehaut“ an der Sorte Industrien-Elfriede in Westfalen (Münster) beobachtet worden.

In dem Bericht der Pflanzenschutzgesellschaft zu Quebec meldet Fraser<sup>3)</sup> u. a. das starke Auftreten von Spitzenbrand bei Kartoffel, der durch trockenes Wetter, das die Lebenskraft der Pflanze schwächt, sehr begünstigt wird. Erhaltung der Feuchtigkeit, sowie Insekten- und Pilzbekämpfung durch Spritzen halten diese Krankheit nieder.

Als Fortsetzung zu früheren Untersuchungen bringt Horne<sup>4)</sup> beachtenswerte Mitteilungen zu einer an der Kartoffelsorte „President“ beobachteten Blattfleckenkrankheit. In leichten, sandigen Böden bei Wisley waren in den Jahren 1912 und 1913 die Ernten der genannten Sorte sehr gering. Viele Pflanzen blieben klein, zeigten gelbfleckige, gerollte oder gefaltete Blätter und trugen nur 2—3 kleine Knollen. Gute und schlechte Pflanzen blühten wohl ab, brachten aber keine Samen. *Macrosporium solani* wurde nicht beobachtet. Knollen kranker Herkunft übererbten allgemein den Defekt, eine solche Knolle aber, in andere Bodenverhältnisse gebracht, lieferte eine Staude mit normalem Laub. Gute und schlechte Pflanzen wurden bei Wisley aus Knollen mittlerer Größe von verschiedener Örtlichkeit erhalten. Ein Zusammenhang der Krankheit mit der Verschiedenheit der Knollen hinsichtlich ihrer Form, Größe, Augencharakter und Schalenbeschaffenheit ist nicht ermittelt worden. Über zwei eigenartige, in letzter Zeit in England, Schottland und Irland besonders auffällige Knollenkrankheiten der Kartoffel, die möglicherweise nur zwei verschiedene Erscheinungsformen einer einzigen Krankheitsursache sind, berichtet weiter Horne<sup>5)</sup>. Die Krankheit ist auf dem Knollendurchschnitt in Form von braunen Flecken oder Streifen charakterisiert und macht die Kartoffel für den menschlichen Genuß und für Saatzwecke ungeeignet. Über die in den Jahren 1912—1913 bei Wisley ausgeführten Versuche berichtet Horne, wie folgt: Während im Jahre 1912 ungefähr 10 Proz. streifenkranker Kartoffeln von kranken Elternknollen erzogen wurden, war im Jahre 1913 kein Fall von Streifenkrankheit vorhanden. Man erntete anscheinend gesunde Knollen von krankem Saatgut und umgekehrt kranke Knollen von gesunder Abstammung. Ge-

<sup>1)</sup> Oversigt over Landbrugsplant. Sygdomme i 1914. 94. Beretn. fra Statens forsogsvirksomhed i Plantekultur. Kopenhagen 1915. p. 267.

<sup>2)</sup> Jaarverslag 1913/14. Amsterdam 1915.

<sup>3)</sup> Ann. Rpt. Quebec. Soc. Protect. Plants. Vol. 6. 1913/14. p. 45; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 543.

<sup>4)</sup> Journ. Roy. Hort. Soc. London. Vol. 39. 1914. p. 595. 6 Taf.; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 342.

<sup>5)</sup> Journ. Roy. Hort. Soc. London. Vol. 39. 1914. p. 607. 1 Taf.

sunde Knollen auf verseuchtem Boden ergaben nur wenig streifenkranke Tochterknollen, hingegen kranke Elternknollen auf demselben Boden einen hohen Prozentsatz kranker Deszendenz. Gesundes Saatgut auf unverdächtigem Boden ergab keine typischen Fälle von Streifigkeit und nur einen kleinen Prozentsatz von Knollen mit Spuren der innerlichen Krankheit. Als Vorbeugungsmittel wird peinlichste Saatgutauswahl empfohlen. Waschen des kranken Saatgutes scheint die Krankheitsdisposition zu erhöhen. Eine Verbreitung oder Zunahme der Krankheit während des Lagerns der Kartoffeln wurde nicht beobachtet, was möglicherweise auf die vorsichtige Aufbewahrung zurückzuführen sein dürfte.

Molz<sup>1)</sup> hat sich mit der Frage beschäftigt, ob „eisenfleckige“ Kartoffeln als Saatgut verwendbar sind. Aus zahlreichen Untersuchungen ergibt sich, daß bei dieser Erscheinung die erkrankten Stellen frei von Krankheitserregern sind und daß es sich hier um eine physiologische Erscheinung handelt, deren Ursachen in dem Boden, bzw. in den Ernährungsverhältnissen im weitesten Sinne liegen. Man hat saure Eisenverbindungen im Boden für das Aufleben der Krankheit verantwortlich machen wollen, andere Untersuchungen schieben wieder die Schuld auf Nässe des Bodens. Aus anderen Beobachtungen ergibt sich wieder, daß starke Stallmistdüngung bei manchen Kartoffelsorten die Eisenfleckigkeit hervorgerufen hat, während die gleichen Sorten bei Mineraldüngung gesund geblieben sind. Für den Kartoffelbauer ist es nun von großer Wichtigkeit, daß die Krankheit im allgemeinen durch das Saatgut nicht übertragen wird. Eisenfleckige Kartoffeln sind im allgemeinen als Saatware nicht zu beanstanden. Ebenso brauchbar sind derartig erkrankte Kartoffeln zu Futterzwecken, während sie zu Speisezwecken mit mehr als 3 Gewichtsprozenten eisenfleckiger Knollen nach den gebräuchlichen Normen zu verwerfen sind.

Unter den Beschädigungen, deren Ursachen noch nicht bekannt sind, erwähnt Ritze<sup>2)</sup> das Auftreten der „Kringerigheid“ der Kartoffel in Heelweg, Schiermonnikoog, Utrecht und Westterschelling. Bei Proben aus den beiden letztgenannten Orten wurde bemerkt, daß die Zellen im Umkreise der Kringerigheidflecken mit rotem Zellsaft erfüllt waren, was aber anscheinend eine übererbte Eigenschaft gewisser Kartoffelsorten ist, die mit der Krankheit nichts zu tun hat, da derartige rote Zellen auch an gesunden Kartoffeln derselben Herkunft gefunden worden sind. Die rote Farbe verschwindet nach dem Kochen der Kartoffel, im Gegensatz zu den braunen Flecken der „Kringerigheid“, welche auch nach dem Kochen sich erhalten. Zu Westterschelling ausgeführte Feldversuche scheinen dafür zu sprechen, daß eine gute Düngung, vor allem mit Kali und Kalk, einen günstigen Einfluß auf das Abnehmen der Krankheit hat, wenngleich auch angeführt ist, daß der Kalk unglücklicherweise der Schorfkrankheit Vorschub leistet und nach Angabe des Reichslandbaulehrers v. D a l e n mit Kalk und Kali die „Kringerigheid“ nicht zum Verschwinden gebracht werden konnte. Weitere Versuche wären daher jedenfalls erwünscht.

Über eine eigenartige Spindelsproßkrankheit (spindling-sprout) der Kartoffel berichten Stewart und Sirrine<sup>3)</sup>. In Long Island im Jahre 1914

<sup>1)</sup> Landw. Wochenschr. f. d. Prov. Sachsen. Jg. 17. 1915. p. 171.

<sup>2)</sup> Instit. voor Phytopathol. te Wageningen. Verslag over Onderzoekningen gedaan in-en over inlichtingen, gegeven vanwege bovengenoemd Instituut in het Jaar 1913. 1915. p. 87.

<sup>3)</sup> New York Stat. Bull. 1915. No. 399. p. 133. 3 Taf.; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 33. 1915. p. 52.



herangezüchtete Kartoffelsaat ergab kleine, schwache Pflanzen ohne Symptome einer Pilzkrankheit; die kranken Pflanzen stammten von einem Saatgut, das schwache, fadenförmige Sprossen lieferte; diese eigenartige Schwäche der Saatkollen wird auf die außerordentliche Hitze des Sommers 1913 zurückgeführt.

Vilikowsky<sup>1)</sup> beweist die Ansicht von Vöchting, daß die Bildung der oberirdischen Knollen der Kartoffeln durch die übermäßige Anhäufung von Stärke in den Stengeln verursacht ist. Man braucht dies aber nicht immer als Folge pathologischer Einflüsse zu betrachten, sondern die Bildung kann auch dann vorkommen, wenn die Pflanze die schnell angehäuften Stärke nicht im gleichen Tempo in die unterirdischen Knollen abführen kann.

Uzel<sup>2)</sup> hat die Beobachtung gemacht, daß alte, faulende und kaum mehr zu genießende Kartoffeln aus ihren Augen lange Stolonen trieben, auf denen entweder gegenständig oder abwechselnd erbsen- bis taubeneigroße junge Knollen hingen. Die zumeist runden, ungefähr 17 g schweren und 3 cm im Durchmesser haltenden jungen Knollen besaßen dreimal so viel Stärke als die Mutterknollen und zeichneten sich durch einen delikaten, an gekochte Kastanien erinnernden Geschmack aus. Es würde sich vielleicht empfehlen, solche köstliche junge Kartoffeln aus alten, dem Verderben nahen Mutterknollen zu züchten und scheint es, daß ein trockener und finsterer Aufbewahrungsort die Bildung dieser Knollen begünstigt. Die Natur scheint im Notfalle imstande zu sein, die Bildung der Wurzeln und der grünen Pflanze zu überspringen und direkt, nur durch Vermittlung der Stolonen, ihre aufgespeicherten Nährstoffe den rasch gebildeten jungen Knollen zu übermitteln. Es ist übrigens auch ein Fall bekannt geworden, wo es im Felde selbst zur Bildung ähnlicher Knollen gekommen ist. Die gelegten Mutterknollen konnten nämlich wegen lange andauernden, sehr kühlen Wetters nicht keimen und fingen zu faulen an. Gleichzeitig erzeugten sie aus den Augen auf verkürztem Wege junge Knollen, um sich eine Nachkommenschaft zu sichern.

Über Blitzschäden an Kartoffeln (und Baumwolle) veröffentlichen Jones und Gilbert<sup>3)</sup> eigene Beobachtungen. Es handelt sich um das plötzliche, fleckweise Abwelken und Vertrocknen der Pflanzen in vollkommen ebenem Gelände in einem Umkreis von 8—10 oder 15—20 Fuß (2,4—3 m, bzw. 4,5—6 m) Durchmesser. Nach Jones zeigten die in Wisconsin vom Blitz getroffenen Kartoffelpflanzen Schrumpfpfortien am Stengel von der Erdbodenlinie aufwärts bis zur halben Höhe der Pflanze, während die Spitzenteile vielfach noch lebend waren. Es werden einige europäische Berichte über Blitzschäden an Wein, Zuckerrübe und Kartoffel zum Vergleich herangezogen und es wird darauf hingewiesen, daß Blitzschäden bei Mais und Halmfrucht viel weniger beobachtet sind, wie ferner die elektrische Entladung mit der eigenartigen Verteilung der oberirdischen Organe, sowie des Wurzelsystems und der spezifisch verschiedenen Widerstandskraft der einzelnen Pflanzenarten in Verbindung gebracht wird. Nach trockenen Hitzeperioden verteilt sich die elektrische Entladung horizontal in der von den ersten Regentropfen benetzten, oberflächlichsten Bodenschichte und durchsetzt den schlecht leitenden, trockenen Untergrund vorzugsweise auf dem Wege der besser leitenden, saftreichen Pflanzenteile (Stengelbasis, Wurzel).

<sup>1)</sup> Botan. Centralbl. Bd. 129. 1915. p. 372.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. Zuckerind. in Böhmen. Jg. 39. 1915. p. 452.

<sup>3)</sup> Phytopathol. Vol. 5. 1915. p. 94. 1 Taf.

**D. Pflanzenschutzmittel.**

Hayunga<sup>1)</sup> hat gegen die Blattrollkrankheit, die Kartoffelfäule und gegen den Kartoffelschorf durch einige Jahre fortgesetzte Schwefeldüngungsversuche angestellt. Der Schwefel wurde in der Menge von 20 kg. auf 10 Ar gegeben und eingeeggt. Was zuerst die Versuche gegen die Blattrollkrankheit anbetrifft, so war im ersten Jahre das Ergebnis sowohl hinsichtlich des Ertrages als auch in bezug auf das Auftreten der Krankheit ein negatives. Im zweiten Jahre brachte die Schwefeldüngung 13,68 hl, die nicht geschwefelte Kontrollparzelle 10,40 hl Kartoffeln. Die Blattrollkrankheit trat bei diesem Versuche, der daher nur Einfluß auf den Ertrag hatte, nicht auf. Der erste Versuch gegen die Kartoffelfäule brachte das Ergebnis, daß sowohl im Ertrage als auch im Befund an mit der Krankheit befallenen Knollen sich zwischen der geschwefelten und der Kontrollparzelle kein merkbarer Unterschied zeigte. Im zweiten Jahre trat die Fäule nicht auf; im Ertrag stand auch hier die geschwefelte Parzelle höher (um 7 hl Kartoffeln) gegenüber der ungeschwefelten. Die Versuche gegen den Kartoffelschorf brachten im ersten Jahre das Ergebnis, daß die mit und ohne Schwefel gedüngten Parzellen vollständig von der Krankheit durchseucht, d. h., daß fast keine Knolle schorffrei war. Mit diesen stark vom Schorf befallenen Saatkartoffeln wurde im nächsten Jahre ein Versuchsfeld, das zur Hälfte mit Schwefel gedüngt war, bepflanzt. Trotz der mit Schorf behafteten Saatkartoffeln brachten beide Parzellen schorffreie Kartoffeln und hat also auch hier der Schwefel keinen Einfluß auf die Krankheit, deren Ursache im Boden zu liegen scheint, ausgeübt. Nach diesen Ergebnissen kann man daher von keinem Einfluß der Schwefeldüngung auf die Bekämpfung der genannten drei Kartoffelkrankheiten sprechen.

Schander<sup>2)</sup> hat seit 3 Jahren Versuche über die Verwendung von Schwefel und Kalk zur besseren Konservierung der Kartoffeln in den Mieten angestellt. Die Konservierungsmittel wurden auf den Boden und zwischen den Knollen verteilt, außerdem wurde auch der fertig aufgeschüttete Haufen oberflächlich bestreut. Zu einer guten Bepuderung reichen 150 g Schwefel für 100 kg Kartoffeln vollständig aus; für die Praxis wird man als geringste Dosis 100 g Schwefel rechnen müssen. Der Kalk wurde in den Mengen von 500 g und 250 g (diese reichen vollständig aus) für 100 kg Kartoffeln verwendet. Als Sorte wurde eine bereits verlesene, zur Saat bestimmte Up to date, deren Haltbarkeit erfahrungsgemäß als mittel bezeichnet werden kann, verwendet. Nach der Behandlung wurden die Mieten in üblicher Weise zugedeckt, überwintern gelassen, am 20. April geöffnet und dann untersucht. Es konnte nun festgestellt werden, daß dem Schwefel die zugeschriebene Eigenschaft, die Kartoffeln in der Miete vor Fäulnis zu bewahren, nicht zukommt, denn die mit Schwefel behandelten Knollen enthielten insgesamt einen höheren Prozentsatz fauler Knollen als die unbehandelten; ferner hatte auch die Keimfähigkeit der mit der größeren Menge Schwefel behandelten Kartoffeln nicht unerheblich gelitten. Es ist daher auch nach dieser Hinsicht in der Verwendung des Schwefels die größte Vorsicht geboten. Im Gegensatz zu den Schwefelversuchen hat die Kalkbehandlung eine teilweise erhebliche Herabsetzung der Fäulnis bewirkt. Besonders fällt ins Gewicht, daß durch die Kalkbehandlung ein allmähliches Eintrocknen der faulen Kartoffeln statt-

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Spiritusind. Jg. 38. 1916. p. 360.

<sup>2)</sup> Deutsche Landw. Presse. Jg. 42. 1915. p. 361.

findet, daher der jauchige Inhalt sich nicht weit ausbreiten kann. Da der Kalk die Kartoffeln beschmutzt, so kommt er für gewöhnlich nur für Saat- und Brennereikartoffeln, nicht aber für Speisekartoffeln in Betracht. Außer dem Kalke leistet auch eine Konservierung mit Torfmull (1—2 kg für 100 kg Kartoffeln) gute Dienste. Trockener Sand, der auch vielfach verwendet wird, übt eine viel zu geringe Wirkung aus und ist auch zu teuer. Selbstverständlich können die angeführten Konservierungsmittel auch bei der Lagerung der Kartoffeln im Keller Verwendung finden. Zu beachten ist, daß die Kartoffeln, um die Selbsterwärmung nicht zu sehr zu steigern, nicht zu hoch aufzuschütten sind. Für die Überwinterung empfiehlt sich eine Aufschüttung von höchstens 75 cm und für die Sommerlagerung wählt man höchstens eine Höhe von 50—60 cm.

S h e r b a k o f f <sup>1)</sup> hat eine Reihe von Versuchen in den Jahren 1911—1913 ausgeführt, um die Schorf vermindernde Wirkung des Schwefels und seinen etwaigen (düngenden) Einfluß auf die Nachernte zu studieren. Wurde Schwefel vor der Pflanzung der Kartoffeln in der Menge von 450—900 Pfd. (= 200—400 kg) auf ein acre (= 40 a) breitwürfig gestreut und 2 inche (5 cm) tief unter die Erdoberfläche eingearbeitet, so war eine bedeutende Schorfverminderung zu beobachten; in keinem Falle aber eine radikale Beseitigung des Schorfes. Durch Kalkzugabe von 350—400 Pfd. (= ca. 160—180 kg) auf ein acre zu 450 Pfd. (= 200 kg) Schwefel wurde die Fungizidwirkung des Schwefels praktisch auf Null reduziert. Dieselbe Kalkmenge in Verbindung mit 900 Pfd. (= 400 kg) Schwefel reduzierte die Fungizidwirkung des Schwefels nicht mehr und verminderte zugleich die schädlichen Folgen des Schwefels bedeutend. Schwefel mit Kunstdünger in Verbindung gebracht, vermindert deren Dungwirkung mehr oder minder, kleinere Mengen von Schwefel, ca. 100 Pfd. auf ein acre, ließen in gewissen Böden eine Dungwirkung auf die Kartoffeln erkennen; in Mengen von über 300 Pfd. auf ein acre verwendet, scheint der Schwefel auf die Ernte mehr oder minder schädigend einzuwirken. In der Regel vermindert der Schwefel gleichzeitig Schorf und Ertrag des Kartoffelnachbaues im folgenden Erntejahr, den Schorf aber in stärkerem Maße als den Ernteertrag.

Den schlechten Erfahrungen von T h o m a s beim Bestäuben eingekellter Kartoffeln mit Schwefelblumen, nach welchem die Keimkraft des Saatgutes sehr geschädigt worden wäre, sind einige günstige Berichte von M a r t i n e t, D a c c o r d und M e i l l a n d <sup>2)</sup> gegenübergestellt, welche bei diesem Konservierungsverfahren der Kartoffel keine Keimschädigung beobachten konnten; allerdings ist ein trockener und kühler Keller Grundbedingung für die Gesunderhaltung der Kartoffel. Die erwähnten Schädigungen könnten vielleicht auf schlechte Einwinterung in warmen und feuchten Kellern und auf die unter solchen Bedingungen möglicherweise sich bildende schwefelige Säure zurückgeführt werden. Das Bespritzen des Kartoffellaubes mit Kupfermitteln während des Sommers gegen Krautfäule kann nur empfohlen werden.

Über den Einfluß der verschiedenen Schorfbeizmittel auf die Keimfähigkeit der Kartoffel hat M a n e y <sup>3)</sup> das Ergebnis 3jähriger Versuche veröffent-

<sup>1)</sup> New York Cornell Stat. Bull. 1914. No. 350. p. 705; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 146.

<sup>2)</sup> La Terre Vaudoise. Jg. 7. 1915. p. 270.

<sup>3)</sup> Iowa Stat. Bull. 1914. No. 148. p. 39; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 240.

licht. Behandlung mit Formaldehydgas kann wegen unzureichender und keimschädigender Wirkung nicht empfohlen werden. Die Keimkraft der Kartoffel leidet nicht bei einer 2—6 stündigen Beize der unverletzten Kartoffel in einer Lösung von 1 pt. Formaldehyd in 30 Gal. (= ca.  $\frac{1}{2}$  proz.) Wasser oder von 2 oz. Sublimat in 16 Gal. (= 0,093 proz.) Wasser. Werden die Knollen länger in diesen Lösungen belassen oder nicht sofort zum Trocknen gebracht, so leidet die Keimkraft beträchtlich. Die Saatkartoffeln dürfen vor der Beizung gegen Schorf nicht angeschnitten werden.

Über eine Reihe von Spritzversuchen mit Insektiziden, Fungiziden und Klebmitteln („stickers“) zur Erhöhung der Haftbarkeit an Kartoffeln berichtet Ince<sup>1)</sup>. 150 kleine Parzellen waren in die Versuche einbezogen und wurden viermal im Zeitzwischenraum von 2 Wochen bespritzt. Die Ergebnisse werden hinsichtlich der Haftfähigkeit des Spritzmittels, der Wirkung auf die Pflanzen, Schadinsekten, sowie Krautfäule, auf die Ausreifung und auf das Ernteergebnis beurteilt. Bleiarseniat und Zinkarsenit sind hinsichtlich der Haftfähigkeit auf der Pflanze dem Pariser-Grün weit überlegen. Die Haftbarkeit wird durch Beigabe von Seife, Leim und durch die Karbonate von Eisen, Blei oder Zink erhöht; ebenso wirkt frisch gelöschter Kalk und Mehl. Bespritzungen mit Schwefelmitteln (wie Schwefelkalkbrühe, „Soluble Sulphur“ und „Sulfocide“) in Verbindung mit Arsengiften hatten starke Laubverbrennungen zur Folge und sich als unzureichend erwiesen. Pariser-Grün in Verbindung mit Schwefelmitteln scheint die Pflanzen stärker zu schädigen als Bleiarseniat in derselben Verbindung. Mit wenigen Ausnahmen mieden die Käfer die mit Arsen bespritzten Pflanzen und die Raupen wurden getötet. Aus den Tabellenangaben scheint hervorzugehen, daß auch gewisse Fungizide, wie Schwefelkalkbrühe, sowie die Karbonate und Hydroxyde von Zink, Kupfer und Mangan eine unterdrückende Wirkung auf das Auftreten von Raupen ausüben. Die Verbindung von Arsenmitteln mit Fungiziden scheint für die Lebensverlängerung des Kartoffelkrautes sehr bedeutend zu sein.

### Referate.

Schmitz, K. E. F., Über die Leistungsfähigkeit des Lockbeckschen Milchsterilisierungsverfahrens. (Biorisation). (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 80. 1915. p. 233—261.)

In der Einleitung werden zuerst die bisherigen Bemühungen hervorgehoben, um eine möglichst keimarme und von pathogenen Bakterien freie Milch zu erhalten. Fast allen bisherigen Methoden hafteten die Nachteile an, daß hierdurch die Milch schädigende Veränderungen herbeigeführt wurden, so daß nicht allein der Wert für die Säuglingsernährung sank, sondern daß solche auch zur Kälberaufzucht unbrauchbar wurde. So notwendig es war, den Kälbern eine tuberkelbazillenfreie Milch geben zu können, so bedauerlich war es, daß die durch den Prozeß denaturalisierte Milch von den jungen Tieren nicht vertragen wurde und sie an derselben bald zugrunde gingen.

<sup>1)</sup> North Dakota Stat. Spec. Bull. 1914. No. 3. p. 147; durch Experim. Stat. Rec. Vol. 32. 1915. p. 158.

Auch das im übrigen viele Vorzüge bietende Verfahren nach R ö m e r und M u c h zur Gewinnung der P e r h y d r a s e m i l c h genügte nicht, um die aus einem tuberkulösen Euter stammende Milch zu sterilisieren, da die ausgeschiedenen Eiterkörperchen vorzeitig das zugesetzte Perhydrol spalteten und solches gar nicht zur Einwirkung auf die Tuberkelbazillen gelangte. Erst das 1912 von L o b e c k aufgestellte Verfahren der Sterilisation vernichtete alle Keime mit Ausnahme der widerstandsfähigen Sporen, ohne den Charakter der Rohmilch zu ändern. Welche weittragende volkswirtschaftliche Wichtigkeit einem solchen Verfahren innewohnt ist einleuchtend, da hierdurch die Möglichkeit gegeben ist, die Tuberkulose bei den Rindern zurückzudrängen, ganz abgesehen davon, daß auch die Säuglingsernährung hierdurch um eine Gefahr ärmer gemacht wird. Verf. unternahm eine Nachprüfung dieses Verfahrens, weil einerseits die von anderen Forschern angestellten Prüfungen nicht ausreichende Rücksicht auf die Entfernung der Tuberkelbazillen genommen hatten und anderseits in erschöpfender Weise der unbeeinflusste Rohmilchcharakter, ferner die Labgerinnungsmöglichkeit und Menge des gemeinen Eiweißes bewiesen werden sollte, auch ob das Verfahren zugesetztem Diphtherie-Antitoxin schade. Letzteres ist von besonderer Wichtigkeit, da für die Kälberaufzucht die Antikörperübertragung durch die Muttermilch von hervorragendem Werte ist; ferner wurde noch die bakterizide Kraft der Milch vor und nach der Biorisation bestimmt. Durch Aufzuchtversuche von Kälbern sollte die praktische Wichtigkeit bewiesen werden, leider aber wurden durch den Kriegsausbruch die Versuche mit roher, biorisierter und abgekochter Milch unterbrochen, doch konnte noch ermittelt werden, daß nach einer 3—4 Tage dauernden Fütterung allein dasjenige Tier, welches abgekochte Milch erhielt, Durchfall und Abgeschlagenheit zeigte. Eine Wiederholung und Durchführung ähnlicher Versuche muß zu geeigneter Zeit folgen. — Auf den Seiten 235—38 findet sich die eingehende Beschreibung des Biorisationsverfahrens an der Hand erklärender Abbildungen. — Bei den eigenen Versuchen des Verf. ergab sich, daß, sobald es gelungen war, die Temperatur auf den gewünschten Grad einzustellen, man nur auf den gleichbleibenden Druck zu achten hatte, wobei das von L o b e c k empfohlene Temperaturoptimum mit 75° angenommen wurde. Es folgen dann zunächst die Mitteilungen über die durch das Verfahren bedingten Eingriffe auf den Charakter der Rohmilch durch die Biorisierung und die durch verschiedene Personen angestellten Kostproben ergaben, daß kein Unterschied wahrnehmbar sei, ebenso wenig konnte bei Ermittlung des Oxydasegehaltes ein solcher festgestellt werden. Bei der Reduktaseprüfung zeigte sich zuweilen Verzögerung, die auf den starken Keimgehalt der Ausgangsmilch zurückzuführen war. Die Albuminfällungsreaktionen nach R u b n e r und ebenso nach K i r c h n e r ergaben zwischen roher und biorisierter Milch keinen Unterschied. Die sehr eingehenden Versuche über quantitative Bestimmung des gemeinen Eiweißes, ferner über Labgerinnungsfähigkeit, Bestimmung der bakteriziden Kraft und Prüfung der Beeinflussung von Diphtherieantitoxin finden in den Schlußfolgerungen entsprechende Würdigung. Von ganz besonderem Interesse ist das Kapitel „der Beeinflussung des Keimgehaltes der Milch durch die Biorisierung“. Andere Unterabteilungen bringen Versuche über „die Abtötung der normalen Milchkeime“. Bei letzteren sei hervorgehoben, daß z. B. bei Zusatz von Paratyphus selbst in der stärksten Verdünnung von roher Milch noch unzählbare Keime nachweisbar waren, während sich in biorisierter

Milch selbst bei Ausstrich ohne Verdünnung kein einziger Typhuskeim mehr zeigte. Auch Staphylokokken gegenüber hat das Biorisationsverfahren weitgehende Wirkung. Die wichtigsten Versuche über die Abtötung von Tuberkelbazillen“ durch dieses Verfahren ergaben gleichfalls sehr gute Resultate; wir wissen, daß Typhuskeime leichter aus Milch zu entfernen sind, als Tuberkelbazillen und ist daher der günstige Ausfall mit Freuden zu begrüßen, da sowohl bei 75 °, als auch bei 70 ° und 73 ° die in großer Menge zugesetzten Tuberkelbazillen abgetötet wurden und entsprechende Tierversuche solches bestätigten. Von den geimpften Tieren starb bei entsprechenden Kontrollversuchen keines, sie besaßen niemals Tuberkelüberempfindlichkeit und boten keine klinischen Zeichen irgendeiner tuberkulösen Erkrankung.

Auf Grund der gesammelten Erfahrungen hat Verf. das Biorisationsverfahren auch zur Sterilisierung anderer Flüssigkeiten benutzt und schlägt vor, hiernach die Impfstoffe gegen Cholera und Typhus zur Abtötung der Keime zu behandeln. Mehrfache Versuche zeigten die vollendete Keimvernichtung und ergaben die Möglichkeit, dieses Verfahren zu genannten Zwecken zu verwenden, da eine raschere und weniger eingreifende Art der Abtötung trotz der Temperatur von 75 ° nicht gut denkbar ist. Nach des Verf. Ansicht ist der Biorisator auch zur Sterilisierung von Trinkwasser im Felde zu benutzen und sind demgemäß bereits Versuche im Gange.

Es werden also alle untersuchten Krankheitserreger einschließlich der Tuberkelbazillen durch die plötzliche Einwirkung von 75 ° sicher abgetötet und das L o b e c k sche Verfahren stellt für die Bekämpfung der Seuchenverbreitung durch Milch einen wichtigen Fortschritt dar. Das Wesentliche hierbei aber ist, daß die Keimvernichtung ohne Änderung des Rohmilchcharakters erfolgt. Eine nachgewiesene ganz geringfügige Herabsetzung der Labgerinnungsfähigkeit aber ist unwesentlich. Es kann bestimmt behauptet werden, daß durch die erwähnte Behandlungsart die Milch weder im Marktwert noch im Nährwert herabgesetzt und die Aufzucht der Kälber mit tuberkelbazillenfreier Milch gewährleistet wird. Weitere diesbezügliche Versuche sind im Gange. Dagegen scheint biorisierte Milch für Säuglinge nur mit Einschränkung verwendbar zu sein, wissen wir doch, daß eine zehn Minuten lang gekochte Milch im Sommer leicht den Säuglingen zum Verderben wurde, weil durch das Kochen alle Bakterien außer den Sporenbildnern zugrunde gehen und letztere die Milch durch Peptonisierung für Säuglinge in eine bedenkliche Nahrung umwandeln. Ganz derselbe Nachteil haftet aber auch der biorisierten Milch an. Hier sind also noch Schwierigkeiten zu überwinden, denen S c h m i t z durch Zusatz von Reinkulturen z. B. Milchsäurebakterien zu begegnen sucht; Verf. ist mit der Ausführung dieses Gedankens bereits beschäftigt und behält sich Mitteilungen darüber vor. Der letztgenannte Mangel ist der einzige, welcher dem L o b e c k schen Verfahren anhaftet und da er verbesserungsfähig ist, kann das Verfahren als ein großer Fortschritt auf dem Gebiete der Milchbehandlung begrüßt werden.

In nachstehenden Sätzen faßt S c h m i t z seine Ergebnisse zusammen:

Nach der Sterilisierung der Milch durch das L o b e c k sche Verfahren hat dieselbe ihren Rohmilchcharakter in jeder Beziehung fast vollkommen bewahrt. Es zeigt sich dies an dem Ausfall der Prüfungen auf Geschmack, Geruch usw., Fermentreaktion, Bestimmung der Menge des gemeinen Molkeneiweißes und Größe der bakteriziden Kraft. Das zugemischte Diphtherieantitoxin wurde in seinem Werte nicht beeinträchtigt und nur die Labgerin-

nungsfähigkeit zeigte sich um eine Spur geringer als bei der rohen Milch. Dann wurden die gewöhnlichen Milchkeime bis auf die Sporenbildner vernichtet und die in großen Mengen zugesetzten Krankheitserreger, auch Tuberkelbazillen ausnahmslos abgetötet und zwar erfolgte deren Abtötung nicht nur bei der sonst bei allen Versuchen eingehaltenen Temperatur von 75°, sondern auch bei 70° bis 73°. Da die in der rohen Milch vorhandenen Sporen nicht abgetötet werden, so besteht die Gefahr der Peptonisierung. Wo es ratsam erscheint derselben zu begegnen, würde sie sich jedoch leicht durch Einsaat von Milchsäurebakterien oder durch Zusammenwirken der Biorisation mit dem Perhydrasverfahren von Much und Römer verhindern lassen. Auch dicke Bakterienaufschwemmungen, wie sie zur Impfstoffbereitung z. B. für Cholera, benötigt werden, wurden durch die Biorisation mühelos abgetötet. —

Die hochinteressante Arbeit fordert das allgemeine Interesse heraus.

Rullmann (München).

**Hammer, B. W., and Hauser, A. J.,** The Pasteurization of Milk in the final Package. (Iowa Agric. Expt. Stat. Bull. 154. 1914. p. 319—356.)

A series of experiments made to determine the effect of pasteurization in the bottle on the bacteria, the flavor and the cream line are recorded. The pasteurization was done by immersing the sealed bottles of milk in water.

Good bacterial efficiency was obtained when the milk was held for 50 minutes in a vat of water at 145° F. Milk pasteurized in this way soured normally without gass bubbles. The heated flavor in this milk was usually not observed by the ordinary consumer, although it could be detected by those trained to judge dairy products.

Higher temperatures, particularly 160° or 170° F., gave a more pronounced flavor.

The influence of the temperature and time of exposure on the amount of visable cream on the milk was variable. In some cases the heated milk had a greater volume of cream than the unheated portion.

Rogers (Washington).

**Ford, W. W., and Pryor, J. C.,** Observations upon the bacteria found in milk heated to various temperatures. (Johns Hopkins Hospit. Bull. Vol. 25. 1914. p. 270—276.)

A study of the reactions in raw milk and milk heated to various temperatures for 35 minutes is reported. All samples were taken in the city of Baltimore. In raw milk the lactic acid bacteria predominate, and as the milk gets old, it sours and clots. In milk heated to 60° C. normal clotting is somewhat rare, and is followed by peptonization, frequently with gas formation, caused by spore-bearing organisms. In milk heated to 65° C. the sporulating organisms are more predominant and the changes which the milk undergoes are nearly always explosive and peptonizing. This reaction is not due to *B. aerogenes capsulatus*. As the temperature to which the milk is subjected is raised to 85° C. the lactic acid organisms are entirely destroyed, and the gas bacillus (with other anaerobes) develops, giving rise to an explosive reaction with butyric acid as one of the main products. The aerobic spore-bearing organisms also appear in great profusion and variety, converting the curd into a thin slimy liquid with the odor of putrefaction. When milk is heated to 100° C. *B. aerogenes capsulatus* is destroyed in a short space of time. Boiled milk either

clots or slowly peptonizes. The complete destruction of bacterial spores in milk is accomplished only by subjecting the milk to the action of steam under pressure.

A. C. Evans (Washington).

**Shippen, L. P.**, Common organisms in heated milk; their relation to its reactions. (Bull. Johns Hopkins Hospital. Vol. 26. 1915. p. 257—261.)

In milk heated to 60 and 65° C. for 15 minutes, *Streptococcus lacticus*, *Bact. troilii* and the sporebearers survived. No other organisms survived in numbers large enough to be considered. From milk heated to 70 and 85° C. only the sporebearers were recovered.

No gas-producing aerobes could be isolated from milk heated to 60° C. But when milk was heated to 65° C. or above, gas production was observed. This was found to be caused by *Bact. welchii*, which assumes the power of growth in milk under aerobic conditions in the presence of the common aerobic sporebearers or *Bact. troilii*.

A. C. Evans (Washington).

**Jone, H.**, An easy test for bacteria in milk and cream. (Barthel's reductase test improved.) 23 pp. Brooklyn, N. Y. 1915.

Verf. glaubt, mit Hilfe der von ihm „verbesserten“ Methode die folgende bakteriologische Klassifizierung befürworten zu können:

Reduktionszeit (Std.)	< ¼	½	¾	1 ½	2 ½	3 ½	> 4
Keimgehalt im ccm	> 5	3—5	2—3	1—2	300 000	100 000	< 200 000
	Mill.	Mill.	Mill.	Mill.	bis 1 Mill.	bis 300 000.	

Die hierzu empfohlene „verbesserte“ Methylenblaulösung ist folgendermaßen herzustellen: 10 g Methylenblau (von Gröbler, für Bac. Koch) werden in 600 ccm Alkohol gelöst. Die gesättigte Lösung wird filtriert und 125 ccm des Filtrates nach Zugabe von 275 Alkohol (Cologne spirits) mit destilliertem Wasser zu 10 Litern verdünnt. Diese Lösung ist dann chemisch, kolorimetrisch und bakteriologisch einzustellen. Bei der einfachen Probe werden auf je 20 ccm Milch 2 ccm der Lösung verwendet, bei der „doppelten Zeitprobe“ dagegen 8. Die Temperatur soll stets 112° F (45° C!) betragen.

Löhnis (Washington).

**Ayers, S. Henry, and Johnson, W. T. jr.**, Ability of Colon Bacilli to Survive Pasteurization. (Journ. Agric. Res. Vol. III. 1915. p. 401—410.)

The authors summarize their paper as follows:

The thermal death points of 174 cultures of colon bacilli isolated from cow feces, milk and cream, human feces, flies, and cheese, showed considerable variation when the cultures were heated in milk for 30 minutes under conditions similar to pasteurization.

In the experiment the following method of determining the thermal death point was used:

The colon cultures were grown first in plain, neutral extract broth for 18 hours and then inoculated by means of a small-bore pipette into litmus-milk tubes. Four drops constituted an inoculation in each milk tube. In making the inoculations care was taken not to have any of the culture touch or any of the inoculated milk wash upon the sides of the tube, either during the handling or during the subsequent heating.



The inoculated milk tubes, with the exception of the control tubes, were heated in a water bath in which the water was agitated, and the temperature of the milk was recorded in a control tube by a thermometer placed in the milk. The temperature in the tubes was not allowed to vary more than half a degree in either direction. In all experiments the heating period was 30 minutes at a given temperature. After the heating, the tubes of milk were quickly cooled to about 10° C (50° F.), incubated at 37° C (98.6° F.), and the reactions recorded. Growth in the tube indicated that the organism was not destroyed at the particular temperature to which the milk had been subjected.

At 60° C (140° F.), the lowest pasteurizing temperature, 95 cultures, or 54.59 per cent, survived; at 62.8° C (145° F.), the usual temperature for pasteurizing, 12, or 6.89 per cent survived. One culture was not destroyed at 65.6° C (150° F.) on the first heating, but in repeated experiments it was always destroyed.

There is a marked difference in the effect of heating at 60° C (140° F.) and at 62.8° C (145° F.). Although there is only a difference of 2.8° C, or 5° F., 87.3 per cent of the cultures which survived at 60° C (140° F.) were destroyed at 62.8° C (145° F.).

Considerable variation was found in the thermal death point of the colon bacilli which survived 62.8° C (145° F.). When the 12 cultures which survived were heated again at the same temperature, it was found that many did not survive and in each repeated heating different results were obtained.

It seems evident that 62.8° C (145° F.) maintained for 30 minutes is a critical temperature for colon bacilli.

Among the 174 cultures studied all were found to have a low majority thermal death point, but were able to survive pasteurizing temperatures on account of the survival of a few cells.

The colon test as an index of the efficiency of the process of pasteurization is complicated by the ability of certain strains to survive a temperature of 62.8° C (145° F.) for 30 minutes and to develop rapidly when the pasteurized milk is held under temperature conditions which might be met during storage and delivery.

The presence of a large number of colon bacilli immediately after the heating process may indicate improper treatment of the milk.

If milk is pasteurized at a temperature of 65.6° C (150° F.) or above for 30 minutes, we should not expect, from our results, that any colon bacilli would survive. Consequently under such conditions the colon test for the efficiency of pasteurization may be of value. It must be remembered, however, that a study of more cultures may reveal strains of colon bacilli that are able to survive this and even higher temperatures.

#### Author abstract.

**Wolff, A.,** Die Milchhygiene auf dem VI. internationalen Kongreß für Milchwirtschaft in Bern. (Deutsch. Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. Bd. 47. 1915. H. 1.)

Vom milchwirtschaftlich-hygienischen Standpunkte aus sind von diesem Kongresse vor allen Dingen in der I. Sektion — Hygiene — nachstehende Themata zu erwähnen:

1. Über die hygienische Bedeutung der von Gorini isolierten säure- und labbildenden Bakterien des Euters berichtete Prof. Dr. Gorini-Mailand.

2. Über Rindertuberkulose und Kindermilch sprach G. Regner - Stockholm und

3. über die Ausübung der tierärztlichen Kontrolle der Milchviehbestände Prof. Dr. Borgart - Berlin.

Die II. Sektion „Chemie und Bakteriologie“ befaßte sich mit den Fragen „Einheitliche Methoden für die chemische Käseuntersuchung“ und „Die Milchsäurebakterien in ihrer Verwendung im Molkereigewerbe“. Bei der letzten Frage wurde ganz besonders die Anwendung von Reinkulturen der echten Milchsäurebakterien und speziell der gewöhnlichen Milchsäurebakterien im Molkereibetriebe erörtert. Die wichtige Rolle, welche diese Bakterien bei Reifung des Rahmes für die Butterbereitung, Käsefabrikation usw. spielen, ist schon eingehend erörtert. Sie finden im Molkereigewerbe eine gleichwichtige Anwendung wie die Hefe in der Brauerei und ihre Arten erfordern ein eingehendes Studium, wobei besonders auf *Bacter. lactis acidus* bzw. *Streptococc. lact.* verwiesen sei, welche physiologisch recht verschiedene Wirkungen haben können. — Die II. Sektion umfaßte die Betriebslehre. —

Interessenten seien auf den Originalbericht verwiesen.

Rullmann (München).

North, Charles E., The dairyman versus the dairy. (Amer. Journ. of Publ. Health. Vo. 5. 1915. p. 519—525.)

The author believes that the methods of the dairymen are of primary importance in producing clean milk and that by the use of proper methods Grade „A“ milk can be produced in any ordinary barn. Bacterial counts are given to substantiate the author's statements.

A. C. Evans (Washington).

Burri, R. u. Hohl, J., Einfluß des Melkens mit der Melkmaschine „Omega“ auf die bakteriologische Beschaffenheit der Milch. [Mitteil. a. d. Schweizer. landwirtsch. Versuchs- u. Untersuchungsanst. Bern-Liebefeld: Versuche mit der Melkmaschine „Omega“. T. II.] (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1916. p. 240—255.)

Verff. fassen die Eindrücke und Erfahrungen, die sie gelegentlich der auf dem Liebefeld mit der Melkmaschine Omega vorgenommenen Versuche in bakteriologischer Richtung sammeln konnten, wie folgt zusammen:

1. Die Qualität der Milch, soweit sie von Art und Zahl der in ihr enthaltenen Bakterien abhängt, ist beim Maschinenmelken unvergleichlich größeren Schwankungen ausgesetzt als beim Handmelken.

2. Unzweckmäßig oder nicht sorgfältig vorgenommene Reinigung der Maschine kann leicht zur Ansammlung von Bakterienmassen im Innern führen, die sich der an und für sich keimarm aus dem Euter fließenden Milch zugesellen, so daß diese an Haltbarkeit einbüßt und sowohl für hygienische als für technische Verwendungszwecke als minderwertig bezeichnet werden muß.

3. Andererseits ist es möglich, mit der in geeigneter Weise behandelten Maschine eine Milch zu gewinnen, die infolge ihres außerordentlich geringen Bakteriengehaltes in bezug auf Reinheit und Haltbarkeit den höchsten Anforderungen entspricht und jeder von Hand gemolkenen Milch überlegen ist. Selbstverständliche Voraussetzung ist dabei, daß die Maschine nur an ein tadellos sauberes Euter angesetzt wird.

4. Zur Erzielung einer Milch von dem erwähnten hohen Reinheitsgrad sind für die Behandlung der Maschine außer heißem Wasser und Soda keine besonderen Hilfsmittel nötig.

5. Wenn auch anerkannt werden muß, daß das Melken mit der Maschine vom Standpunkt der hygienisch einwandfreien Milchgewinnung einen Fortschritt bedeutet, so ist doch die Tatsache, daß die Qualität der Milch infolge Verwendung der Maschine ebenso leicht verschlimmert als verbessert werden kann, von so schwerwiegender Bedeutung, daß im Interesse des direkten Milchkonsums wie der Milchverarbeitung auf edle Exportprodukte dringend gewünscht werden muß, die Melkmaschine möge da, wo ihre Anschaffung aus wirtschaftlichen Gründen angezeigt erscheint, nur durchaus zuverlässigen Händen anvertraut werden.

K ü r s t e i n e r (Liebfeld-Bern).

**Rettger, Leo F., Kirkpatrick, William F., and Card, Leslie, Milk Feeding and its Influence on the Growth and Mortality. Comparative Study of the Value of sweet and sour Milk. (Storrs Agric. Exper. Stat. Bull. 80. 1915. p. 1—28.)**

This paper records the results of an attempt to control the bacillary white diarrhoea of chickens. The experiments covered a number of years and involved many hundreds of chickens.

It was found that when the chickens were artificially infected with *B. pullorum*, the gain in weight was distinctly greater when they were fed milk. In a typical experiment, which involved 375 chicks, the gain in weight in six weeks was about two pounds per ten chicks greater in those fed milk than in the lots which did not receive milk. Similar results were obtained with uninfected chicks although the difference was less. The results obtained were almost identical if the milk was soured with *B. bulgaricus*, the ordinary lactic type, or was fed in the sweet condition. In a similar way the mortality was distinctly reduced both in the infected and uninfected lots, and this was found not to be influenced by the degree of acidity of the milk.

A probable explanation for this fact was found in a series of experiments in which the intestinal bacterial flora of chickens and white rats was studied under varying conditions of diet. It was shown that the relative numbers of bacteria of the *acidophilus* type in the feces could be greatly changed by varying the feed. When rats were fed large numbers of *B. bulgaricus* in the form of agar cultures with a bread and vegetable diet this organism did not appear in the feces and *acidophilus* was apparently absent.

The addition of sterile milk or lactose to the bread and vegetable diet caused the appearance in the feces of *acidophilus* in large numbers.

R o g e r s (Washington).

**Hammer, B. W., Bacteriological studies on the coagulation of evaporated milk. (Agric. Exp. Stat. Iowa State College. Research Bull. No. 19. 1915. p. 119—131.)**

Microscopic studies of evaporated (unsweetened) condensed milk which formed a firm curd in the can revealed the presence of a small spore-bearing bacillus. These bacilli could not be demonstrated in normal canned milk. Milk inoculated with the spoiled milk became acid and curdled. The spore-forming bacillus was found in this milk in large numbers. Coagulation took place very slowly at room temperature, in about five days at 37 degrees and in two to three days at 55 degrees. The acidity developed more rapidly at

38\*

55 degrees than at 37 degrees but eventually reached a higher point at 55 degrees.

The organism grows well on agar especially at 55 degrees and does not liquefy gelatin. There is no growth in Dunham's solution and in beef bouillon growth is more abundant in the presence of dextrose, galactose, levulose, lactose, maltose or raffinose. Acid but no gas is produced from these sugars.

Rogers (Washington).

**Pryor, J. C.**, On the presence of spore-bearing bacteria in Washington market milk. (Johns Hopkins Hospit. Bull. Vol. 25. 1914. p. 276—278.)

In the study of over fifty samples of market milk, the most important anaerobic species found was *B. aërogenes capsulatus*. Aerobic spore-bearing bacteria were also found in practically all samples, such organisms belonging in general to the gelatin liquefiers. Such species did not develop normally in raw milk, or in milk sold as „pasteurized“.

A. C. Evans (Washington).

**Kiester, William S.**, Note on the antagonism between the lactic-acid and the spore-bearing organisms in milk. (Johns Hopkins Hospit. Bull. Vol. 26. 1915. p. 365—366.)

Market milk heated to temperatures ranging from 60° C to 65° C first clots and then rapidly peptonizes, while the cultures show the sporulators gradually yielding to the intestinal and lactic-acid bacteria. At 67° C the lactic-acid and intestinal bacteria are usually completely destroyed.

A. C. Evans (Washington).

**Heinemann, P. G.**, The germicidal effect of lactic acid in milk. (Journ. of Inf. Dis. Vo. 16. 1915. p. 479—486.)

The effect on pathogenic bacteria of sterilized mixtures of milk and varying amounts of lactic acid was tested. It was found that some acid-tolerant cells of *B. coli* may survive the presence of 0,6 per cent lactic acid in milk. *B. dysenteriae*, *B. typhosus*, *B. diphtheriae*, *B. paratyphosus* B. and *Spirillum cholerae* in these experiments were destroyed by the presence of 0,45 per cent lactic acid. The growth of the test bacteria is influenced to a marked degree by the amount of acid present. Up to a fairly definite amount of acid there is an increase in numbers, followed by a decrease, which becomes more pronounced as the amount of acid increases.

A. C. Evans (Washington).

**Löhnis, F.**, Über das Biorisatorverfahren und die Enzymamilch. (Milchw. Centralbl. Jg. 43. 1914. p. 59.)

Verf. betont, daß in seiner vorausgehenden Mitteilung auf p. 9 zitierter Zeitschrift der Wert des Biorisatorverfahrens an sich nicht diskutiert sei; der gefundene hohe Keimgehalt der untersuchten Enzymamilch dürfte auf ungenügende Reinigung der Flaschen und auf den Umstand zurückzuführen sein, daß die Milch oft erst längere Zeit nach der Behandlung zum Verkauf gelangte. Der Biorisator ist von O. Lobeck konstruiert und der „Gesellschaft für Molkerei-Fortschritte“ patentiert. Von früher bekannt gewordenen Verfahren (Mitteilung von T. Heryng und Verfahren von F. Hering, mitgeteilt von P. Michalowsky) ist das Biorisatorverfahren verschieden.

Wolff (Kiel).

**Meurer, R.,** Über das Biorisatorverfahren und die Leipziger Enzymamilch. (Deutsch. Milchw. Ztg. Jg. 19. 1914. p. 326; Molk.-Ztg. Berlin. Jg. 24. 1914. p. 130; Molk.-Ztg. Hildesheim. Jg. 28. 1914. p. 444.)

Es ist in der Hauptsache ein neuer Vorteil des Biorisatorverfahrens herausgekehrt. „Dadurch, daß dies Verfahren gestattet, mit Sicherheit alle Krankheitserreger abzutöten, daß es je nach Wunsch, aber noch Säurebildner zu erhalten gestattet, steht es weit über allen bekannten Entkeimungsverfahren.“ Die von L ö h n i s gefundenen hohen Keimzahlen beruhten auf mangelhaftem Reinigen der Flaschen und Kontaktinfektion, sowie auf Vorhandensein der nützlichen Milchsäurebakterien, die „absichtlich“ erhalten blieben.

Verf. bezweifelt den Befund L ö h n i s', wonach sich bei Prüfung mit R o t h e n f u ß e r s Reagens die „Enzymamilch“ nur wie ein Gemisch von  $\frac{1}{3}$  gekochter und  $\frac{2}{3}$  roher Milch verhielt und will die von L. beobachtete „gelbliche Färbung der biorisierten Milch“ auf die von Natur aus verschieden ausfallende Farbe der Milch zurückführen. W o l f f (Kiel).

**Zilva, S. S.,** The rate of inactivation by heat of peroxidase in milk. I. (Biochem. Journ. Vol. 8. 1914. p. 656—669.)

Die Verminderung der Milch-Peroxydasen-Wirkung unter dem Einflusse verschiedener Temperaturen und verschiedener Zusätze wurde eingehend studiert. Eine Herabsetzung auf 10 Proz. trat z. B. ein:

bei . . . . .	70	71	72	73	74	75	80° C
innerhalb . . .	75	33	15	6—8	3	1,3	1 Minuten.

L ö h n i s (Washington).

**Rahe, Alfred H.,** A Study of the so-called Inplantation of *Bacillus Bulgaricus*. (Journ. of Inf. Dis. Vol. 16. 1915. p. 210—220.)

*Bacillus Bulgaricus* can not be differentiated from *Bacillus acidophilus* by its colony formation, morphology, or quantitative acid production. The inability of the *Bacillus bulgaricus* to utilize maltose constitutes its essential difference from the intestinal aciduric bacteria that coagulate milk. Three human subjects ingested milk or broth cultures of *Bacillus bulgaricus* daily for about a month. This organism was isolated from the feces during the period of ingestion, but disappeared soon after the ingestion stopped. Three monkeys were fed lactose tablets containing *Bacillus bulgaricus* daily for several days. They were then killed and examinations were made in the various parts of the digestive tract and feces for this organism. It was found that *Bacillus bulgaricus* may survive in the small intestine after it has disappeared from the lower digestive tract and feces, but it was thought probable that this survival is not permanent. The conclusion is drawn that *Bacillus bulgaricus* can not become adapted to the human lower intestine.

A. C. E v a n s (Washington).

**Doane, C. F., and Eldredge, E. E.,** The Use of *Bacillus bulgaricus* in Starters for Making Swiss or Emmental Cheese. (U. S. Dept. Agric. Bull. 148. 1915. p. 1—16.)

Cheese making experiments demonstrated that abnormal gas formation in Swiss cheese can be entirely prevented by the use of cultures of *B. bulgaricus*. Cheeses made from badly contaminated milk, to which 1 to 2 per

cent of whey cultures of *B. bulgaricus* was added, gave very slight or no evidence of gas while check cheeses from the same lot of milk became very gassy in the press.

The ability to suppress abnormal gas formers varies with different strains. The most efficient strain was effective when 1 per cent of culture was added to the milk, while it required 4 per cent of another culture to give satisfactory results.

The addition of 3 per cent of whey culture to the milk was apparently without effect on the normal ripening, but the use of quantities in excess of 3 per cent has a detrimental influence, sometimes entirely suppressing eye formation.

It was found that by the use of pure culture starters, normal cheese could be made in factories at seasons in which Swiss cheese making is considered impracticable and with reasonable care of the milk cheese can be made once a day.

The ordinary lactic acid cultures (*Streptococci*) were not effective.

The paper includes a description of a starter can which is so designed that cultures of *B. bulgaricus* may be grown in the factory with a minimum danger of contamination by yeasts. Rogers (Washington).

**Hammer, B. W.,** Bacteriological studies on two yellow milk organisms. (Agric. Exp. Stat. Iowa State College. Research Bull. No. 20. 1915. p. 135—149.)

A description is given of two cultures which produce a yellow pigment when grown in milk. One in particular when grown in whole milk or cream gives the fat a golden yellow color.

Attempts to color the butter by growing this culture in cream were unsatisfactory because of the very disagreeable flavor resulting from the growth. Rogers (Washington).

**Heinemann, P. G.,** Relation of the number of *Streptococcus lacticus* to the amount of acid formed in milk and cream. (Journ. of Infect. Dis. Vol. 16. 1915. p. 285—291.)

The amount of acid formed in the souring process of milk or cream is not dependent solely on a definite number of bacteria of the *Streptococcus lacticus* group. Temperature and the presence of other bacteria may influence the result.

The raw milk or cream, or in raw milk or cream inoculated with cultures of the *Streptococcus lacticus*, the number of bacteria increases to a given point and then decreases. At 37° C the maximum is reached after 24 hours and at lower temperature after several days.

Coagulation of milk or cream is not solely dependent on a definite amount of acid or a definite number of bacteria. This absence of definite relation between coagulation, on one hand, and acid and number of bacteria, on the other hand, may be due to the kinds of bacteria present; the kind of acid formed; and the activity of the enzymes produced by bacteria.

At 37° C extraordinarily high amounts of acid may be produced after several days, due probably to the activity of the enzymes produced by the *Streptococcus lacticus* and to the presence of members of the group of *Lactobacilli*. A. C. Evans (Washington).

**Heinemann, P. G.,** The variability of two strains of *Streptococcus lacticus*. (Journ. of Infect. Dis. Vol. 16. 1915. p. 221—239.)

Two typical strains of *Streptococcus lacticus* were subjected to definite conditions in order to determine in what manner reactions may be influenced by environment. The chief object of the study was to determine whether the original fermentative ability, as indicated by the amount of acid formed, would remain the same or be changed by animal passage of the strain. Throughout the experiment the fermentation tests were carried out in 6 sets of flasks, varying the supply of oxygen from anaerobic conditions to the free access of air. Each strain was subjected to passages through rabbits and through guinea pigs, with 4 to 7 passages in each case.

The results lead to the conclusion that the acid producing power of the *Streptococcus lacticus* is reduced as the number of animal passages increases. This decrease is rapidly pushed to a point where some of the substances, notably salicin and mannite, are practically not fermented. As a rule, dextrose and saccharose are fermented more persistently than lactose. In tubes with reduced oxygen supply, the decrease is more rapid, than with free access of oxygen. The figures suggest that more complex substances (raffinose and inulin) may be fermented after animal passage when the original did not ferment them. The fermentative ability of the original strains was not changed materially after 38 transfers, respectively in litmus milk.

The animal passage developed in both strains the power to hemolyze human and goats blood. The virulence of both strains was increased. This increase was more rapid in the rabbits than in the guinea pigs. Chain formation was favored by animal passage, and also by cultivation in media containing blood serum, without the addition of carbohydrate.

A. C. Evans (Washington).

**Sherman, J. M., and Hastings, E. G.,** The Presence of *Streptococci* in the Milk of normal Animals. (The Creamery and Milk Plant Monthly. Vol. 3. 1915. p. 11—12.)

The milk from 88 animals in 4 herds were examined for the presence of *Streptococci* which were found in 38.6 per cent of the samples. The mixed milk from the herd at the University of Wisconsin was examined frequently during a period of about two months. *Streptococci* were found at every examination.

So far as could be learned, there were no cases of udder trouble in any of these herds at the time they were examined.

Rogers (Washington).

**Rosenow, E. C., and Moon, V. H.,** On an epidemic of sore throat and the virulence of *streptococci* isolated from the milk. (Journ. Inf. Diseases. Vol. 17. 1915. p. 69—71.)

An epidemic of streptococcal sore throat, traced to an infected milk supply, subsided when pasteurization of the milk was instituted.

Virulent *streptococci* isolated from the milk showed selective preference for certain animal structures, such as joints, muscles, gall-bladder, etc. The organisms from milk resembled the rheumatic strains culturally and morphologically. Involvement of muscles and joints occurred in patients who were infected by the milk. These observations strongly suggested to the author that infected milk, in addition to causing epidemics of sore throat,

in which the symptoms are acute and marked, may be the source of Streptococci of such virulence as to cause rheumatism and allied conditions in human beings.

A. C. Evans (Washington).

**Holterbach, H., Die erfolgreiche Bekämpfung der Streptokokken-Mastitis.** (Bayrische Molkerei-Ztg. Jg. 34. 1913. p. 529.)

H. empfiehlt den Dr. Krafftischen Impfstoff der Impfstoffwerke München zur erfolgreichen Bekämpfung der Streptokokkenmastitis. Das Präparat wurde anfangs subkutan, später in kleineren Dosen direkt in das erkrankte Euterviertel injiziert. Viele Tierärzte kombinieren beide Methoden, indem sie zugleich subkutan und in den Strichkanal injizieren.

Die Heildosis beträgt nach den bisherigen Erfahrungen 20 ccm für Rinder und 5—10 ccm für Ziegen. Zur Heilung sind höchstens 2 Einspritzungen notwendig. Nur bei lange bestehender hartnäckiger Mastitis kann es vorkommen, daß man zur Beschleunigung der Heilung eine, 3. Injektion machen muß.

Die Schutzdosis beträgt für Rinder 10 ccm bei der ersten und 20 ccm bei der zweiten Impfung, die 14 Tage nach der ersten erfolgt. Für Ziegen sind die entsprechenden Schutzdosen 5 bzw. 10 ccm. Wolff (Kiel).

**Köhlisch, Über die Bedeutung der Milch für die Verbreitung der Tuberkulose.** (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81. p. 196 ff.)

Wie bekannt, ist K. Kochs frühere Anschauung, daß der Erreger der Perlsucht beim Rinde dem Menschen keine erhebliche Gefahr bereite, inzwischen als unrichtig angesehen und wir wissen, daß der Typus bovinus den Menschen allerdings bedroht und daß auch tödliche Tuberkulose durch ihn hervorgerufen werden kann. Aus der Kopschen Zusammenstellung ergab sich, daß in 1602 Fällen menschlicher Tuberkulose solche auf Typus bovinus untersucht worden sind, wobei sich derselbe in 126 Fällen allein vorfand und mit humanus gemischt 9 mal, wobei meist Kinder betroffen waren, deren Verdauungskanal befallen war. Orth schätzt die Häufigkeit der durch T. bovinus verursachten primären intestinalen Tuberkulosen der Kinder auf 10 Proz. aller Kindertuberkulosen überhaupt. Zahlreiche Forscher bewiesen ferner noch die Bedeutung des T. bovinus, so daß immer mehr die Kuhmilch als Ursache der Erkrankung in Betracht kam und zahlreiche Untersuchungen zeigten das Vorhandensein von Tuberkelbazillen, wobei sich nicht nur in der Milch eutertuberkulöser Kühe, sondern auch in der von eutergesunden, aber sonst irgendwie tuberkulösen Kühen sich der Tuberkelbacillus fand. Nun beweist aber die Gegenwart dieses Erregers erst die Möglichkeit einer Infektion, Umfang und Bedeutung hängen ab von den Bazillenmengen, die zur Infektion vom Darne aus erforderlich sind und die sich demnach in der Milch finden. Weitere Untersuchungen lehrten, daß bei fortgesetzter Fütterung nur einige hundert, bei einmaliger immerhin viele Millionen zur Infektion der Tiere vom Darne aus erforderlich sind, nach allen Erfahrungen aber ist sicher, daß ziemlich große Mengen von Keimen zur Infektion vom Darne aus vorhanden sein müssen. So ergaben Untersuchungen, daß die Milch eutertuberkulöser Kühe noch in Verdünnung von 1:1 Million, ja sogar 1:1 Billion für Meerschweinchen bei subkutaner und intraperitonealer Injektion wirksam sei. Nach allem scheint es, als ob auch in der Marktmilch, die ja aus mehreren Herden und jedenfalls von vielen Kühen stammt, eine wirk-



s a m e Menge von Tuberkelbazillen vorhanden sein kann. Da aber tatsächliche Erhebungen hierüber noch nicht stattgefunden haben, bearbeitete Verf. diese Frage und wurde hierzu aus verschiedenen Verkaufsstellen B r e s - l a u s bezogene Milch Meerschweinchen eingepft. Je zwei Tiere wurden mit unverdünnter Milch, je eines mit Verdünnungen 1 : 10, 1 : 100 und 1 : 1000 geimpft, also jedesmal 5 Tiere, wobei jedes immer 1 ccm erhielt. Anfangs wurden die Tiere nach 2—3 Monaten, später aber erst nach 7—9 Monaten getötet. Waren Tiere aber früher erkrankt, dann erfolgte deren Tötung auch früher. Aus den Tabellen ergibt sich, von 23 Versuchen bei 12 (52,2 Proz.) ein positives Resultat. Bei 8 Versuchen führte die Impfung mit unverdünnter Milch zur Erkrankung und bei einem Versuch enthielten alle 5 Verdünnungen Tuberkelbazillen, wobei es fraglich ist, ob hiermit schon die Grenze der Infektiosität der Milchprobe erreicht ist. Einige Unregelmäßigkeiten bei anderen Verdünnungen, wo z. B. nur die Tiere, welche Verdünnungen von 1 : 100 oder 1 : 1000 erhalten hatten, erkrankten, lassen annehmen, daß bei Vermischung mit anderer, gesunder Milch die Verdünnung der infizierten Milch so weit ging, daß nicht jeder ccm Tuberkelbazillen enthielt und daß die Verteilung der festen, Tuberkelbazillen enthaltenden Milchpartikel eine derartige war, daß nicht jeder ccm Tuberkelbazillen enthält und somit die Verteilung sehr ungleichmäßig ist, so daß auf diese Weise einmal zufällig mit v e r d ü n n t e r als auch u n v e r d ü n n t e r Milch ein positives Resultat erzielt werden kann. — Zu erwähnen sind noch die von F r ä n k e l und B a u m a n n angestellten Versuche mit extremen Verdünnungen. Sie infizierten Mäuse, Kaninchen und schließlich Meerschweinchen mit Aufschwemmungen von Tuberkelbazillen in sehr zahlreichen Verdünnungen. Bis zu einer bestimmten Grenze erkrankten die Tiere j e d e s Verdünnungsgrades und dann immer nur einzelne, während die übrigen gesund blieben. Plattenkulturen mit Prodigiosusverdünnungen ergaben analoge Resultate. Infolgedessen versuchte man zu ermitteln, in welchem Maße die einzelnen Gruppen von Proben verschiedener Herkunft an den positiven Resultaten beteiligt sind. Verf. stellte drei Versuchsreihen an: 1. Milch verschiedener großer Molkereien, 2. Milch von Domanial-Molkereien, die aber auch teilweise solche von Bauernwirtschaften verarbeiteten und 3. solche ausschließlich aus Bauernwirtschaften, wobei ein wesentlicher Unterschied sich nicht auffinden läßt. Von der 1. Versuchsreihe waren 57 Proz. von der 2. 55 Proz. und von der 3. 40 Proz. positiv. Das beste Resultat hatte also die Bauernmilch ergeben. Aus diesem Befunde ergibt sich eine Zustimmung mit B e h r i n g s Anschauung, wonach die Zahl der tuberkulösen Kühe, mit der Größe der Herde nicht nur relativ, sondern vielmehr absolut wächst. Ähnliches hat E b e r bestätigt. Verf. betont, daß die in allen Verdünnungen bei 1 : 1000 positive Milch aus der g r ö ß t e n Molkerei stamme. So haben also auch K ö h l i s c h s Versuche das gelegentliche Vorkommen von größeren Mengen Tuberkelbazillen in der Marktmilch ergeben und damit die Möglichkeit einer Infektion; immerhin ist solches aber bei 26 Versuchen nur einmal der Fall gewesen und aus ihnen ist zu ersehen, daß in 11 Versuchen kaum mehr als 10 Tuberkelbazillen in 1 ccm unverdünnter Milch vorhanden waren. Hiernach kommen je nach dem Alter auf  $\frac{1}{2}$ —1 l Milch als Tagesration 5000—10 000 Keime und diese Menge wird vermutlich in einem g e - s u n d e n Darms auch bei fortgesetztem Genusse kaum eine Infektion bewirken, aber die Möglichkeit einer solchen ist vorhanden. Wird das Kochen von Säuglingsmilch unterlassen, dann bleibt eine solche Gefahr durch den

Typus bovinus bestehen und damit sind die Maßnahmen gegen die Tuberkulose, welche tuberkelbazillenfreie Marktmilch fordern, berechtigt.  
Rullmann (München).

Dalla Torre, G., Inquinamento del latte colle feci animali. (Ind. latt. e zootecn. Vol. 13. 1915. p. 179—180.)

Zählungen der Kolonien auf Gelatine- und auf Agarplatten ergaben insgesamt pro g Rinderfäces 500 Millionen, Schweinefäces 3400 Millionen Keime, aber nur 1—1½ resp. 4—8 Millionen Colibakterien. Dagegen enthielt sterilisierte Milch, die mit einer sehr kleinen Kotmenge geimpft worden war, pro ccm nach 12 Stunden 2 Millionen und nach 24 Stunden 11 Millionen Repräsentanten der Coli-Aërogenes-Gruppe. Löhnis (Washington).

Kühl, H., Trockenmilchpräparate als Liebesgaben. (Hyg. Rundsch. Jg. 25. p. 693 ff.)

Entsprechend dem Bedürfnisse, unseren tapferen Truppen alle möglichen Liebesgaben ins Feld zu senden, hat sich auch die Industrie dem Ersatze frischer Milch zugewendet, leider, aber meist in nicht genügend zu tadelnder, geradezu betrügerischer Weise. Kühl hat in der vorliegenden Arbeit über verschiedene Trockenmilchpräparate berichtet. So wurde ein Milchpulver „Kuh in der Tüte“, nachdem es aus dem Felde, als „ekelhaft und ungenießbar“ bezeichnet, zurückgekommen war, amtlich untersucht und ergab sehr ungünstige Resultate. Der Fettgehalt entsprach zwar der Deklaration, das Fett aber war ranzig geworden und Geschmack und Geruch des mit angegebener Wassermenge verrührten Pulvers waren ekelhaft. Bei dieser Art von Präparaten und auch noch bei ungenügender Packung tritt naturgemäß Veränderung ein, indem sich Casein und Fett zersetzen. Durch den Trocknungsprozeß werden die sporenfreien Bakterien abgetötet und die sporenhaltigen keimen bei 4—5 Proz. Feuchtigkeit nicht aus. Ebenso war es bei einer in Tablettenform gebrachten Trockenmilch. Die zerdrückten Tabletten lösten sich nur unvollkommen und Geschmack und Geruch waren ebenfalls stark ranzig; die Untersuchung ergab eine direkte Nahrungsmittelfälschung, da zur Darstellung hauptsächlich entrahmte Milch genommen war, so daß auch wegen ihrer Unhaltbarkeit keine Verwendung möglich war. — Bessere Resultate ergaben fettfreie oder fettarme aus Magermilch hergestellte Trockenpräparate; sie lösten sich zwar nicht vollkommen, jedoch war der Geschmack angenehm. Auch bei diesen Präparaten hatte das Casein während der Aufbewahrung sich geändert. Am besten zeigte sich ein unter Zuckerzusatz hergestelltes Magermilchtrockenpulver, indem es sich nach längerer Aufbewahrung ohne jegliche Vorsichtsmaßregel vollständig löste und angenehm süßlich schmeckte. — Somit hat sich ergeben, daß Milchpulver keine geeigneten Liebesgaben sind und so sei besonders vor den zwei zuerst genannten gewarnt.

Rullmann (München).

Hammer, B. W., Pasteurization of cream for butter making. Part II. Bacteriological studies. (Agric. Exp. Stat. Iowa State College Bull. 156. 1914. p. 27—40.)

More efficient pasteurization of sour cream was obtained by the flash method with a temperature of 180 to 185 degrees Fahrnh. than by the holder method using a temperature of 140 to 145 degrees Fahrnh. for twenty minutes.

With the former method the number of bacteria surviving varied from

a few hundred less than 20 000; with the latter method, the number of bacteria in the pasteurized cream varied from 21,600 to 660,000 per c. c.

A comparison of the deterioration in flavor in 17 samples showed only a slight difference in favor of the butter made from pasteurized cream.

Rogers (Washington).

**Kürsteiner, J.,** Wie ist die Käsereikultur entstanden, wie wird sie hergestellt und wie lauten die Erfahrungen der Praxis im Jahre 1915? (Schweiz. Milchzeitg. 1916. No. 48, 50. 51.)

Es wird dem Emmentaler Käser empfohlen, eine Milchsäurebakterienkultur (Käsereikultur) nach Art der praktischen Sauer- (Molkenessig-) Bereitung täglich herzustellen und zu verwenden. Das Züchtungsprinzip beruht auf der für die gewünschten Bakterien elektiven Wirkung eines passenden Nährbodens, unter Anwendung einer hohen Ansatztemperatur und geeignetem Schutz gegen schnelles Abkühlen. Die Käsereikultur bietet dem Emmentaler Käser, auf Grund der gemachten Erfahrungen, einen vollgültigen Ersatz für die vom Liebefelder Laboratorium bezogene Lab-Reinkultur.

Autoreferat.

**Morres, W.,** Beschleunigung der Käsereifung durch alkalische Zusätze. (Österr. Molkerei-Ztg. Bd. 21. 1914. p. 355—358.)

Die chemische Behandlung des Quarkes wird angelegentlich empfohlen. Die Reifezeit wird dadurch wesentlich verkürzt und die Qualität der Sauermilchkäse nach Verf. Ansicht sehr günstig beeinflusst. Die vielfach angepriesenen, teuren Geheimmittel sind allerdings nicht zu empfehlen. Ein Gemisch von Natrium- und Calciumkarbonat sollte dem Quark in Mengen von  $1\frac{1}{2}$ — $2\frac{1}{2}$  Proz. zugesetzt werden.

Löhnis (Washington).

**Thom, Charles,** The Salt Factor in the mold ripened Cheeses. (Storrs Agric. Exp. Stat. Bull. 79. 1914. p. 387—394.)

We think of salt primarily as a flavor in food products. In excessive amounts, it is also associated with preservation of foods in brine. Many of these processes have been thoroughly studied and the effective percentages of salt determined. The literature on this subject has been fully cited by Laffar.

In general, it has been shown that the amount of salt necessary to stop bacterial growth is much greater than the human appetite will tolerate as a flavor. Preservative action, when present, is apparently inversely proportional to the percentage of water present. The mixture acts as a brine, either in plasmolysing the mold or bacterial cell, or together with the affinity of the substance itself, in holding the water so strongly as to render it unavailable for organic growth. Direct toxic action at ordinary strengths is scarcely probable, since dilution of such brines is usually quickly followed by a strong development of microorganisms. The condition is thus one of drought so far as microorganisms are concerned.

In the mold ripened cheeses salt is applied after one to several days of drainage. It does not therefore affect the initial souring which is the first step in ripening all these varieties. Its effect upon ripening agents may be estimated by calculating the strength of the brine formed by the solution of the percentage of salt found in the percentage of water present.

The percentage of salt which may be incorporated into a variety of cheese is directly limited by the intensity of the flavors, more than 1 to 1.5 per cent salt becomes offensive. In Camembert 2.5 per cent is acceptable and in Roquefort 4 per cent.

As a factor in cheese biology, salt restrains the development of *Oidium* in Camembert and shuts it out of Roquefort. Salt delays but does not prevent the development of the molds active in ripening Camembert, Roquefort and the ripened forms of Neufchatel.

Ten per cent of salt in culture media stopped or reduced to negligible the growth of *Penicillium piyophilum*, *B. lilacinum*, *P. luteum*, *P. digitatum*, *P. purpurogenum*, *P. roseum*, *P. Duclauxi*, *Aspergillus nidulans*, *A. fumigatus* and *Oidium (Oospora) lactis*. The rate of development of the other species tried was markedly retarded but more or less characteristic colonies finally developed.

Author abstract.

Gratz, O. u. Vas, K., Die Bedeutung der Bakterien bei der Käse- und der scharfe Geschmack des ungarischen Brinsenkäses. (Kisérletügyi közlemények. Bd. 17. 1914. p. 347—394.)

Gratz, O. u. Vas, K., Über einige neue Bakterienarten im Brinsenkäse. (Ibidem. p. 635—644.)

Die Mikroflora des Brinsenkäses (Schafkäse) ist eine sehr verschiedene, was auf den Schmutzgehalt der Schafmilch, das leicht verderbliche Lab und den Kontakt durch Salz, Geräte, Maschinen usw. bei der Herstellung zurückzuführen ist. Sie besteht aus *Micrococcus*, *Sarcina*, *Bacterium*, *Bacillus*, *Actinomyces*, *Torula*, *Oidium*; die Hauptvertreter sind: *Micrococcus*, *Bacterium casei*, *Streptococcus lactis*. Neu für die Wissenschaft sind: *Bacterium saponificans*, *Bact. adipis*, *Bact. rufum*, *Bacillus gravidus*, *Bacillus submergens*, *B. exilis*, *B. cerasinus*, *B. cirrosus*, *B. parabutyricus*, *B. indolicus*. — Die akzidentellen Bakterien, deren Auftreten sehr unbeständig ist, verschwinden sehr bald. Bei dem Liegen des Käses im Keller vermindert sich die Mikroflora des Käses. Die Kokken und Streptokokken sterben dabei viel früher ab als die Milchsäurebazillen, die sonst auch recht widerstandsfähig sind. Die akzidentellen Organismen sind an der Käse- und der scharfe Geschmack des Teiges die Entwicklung und die Wirkung der Enzyme begünstigen. Die Reifung wird also von den Milchsäurebakterien vollzogen, doch scheinen auch die Enzyme der Rinde daran aktiv beteiligt zu sein. Der scharfe Geschmack einiger Käsesorten ist zumeist auf eine Zersetzung der Fettstoffe zurückzuführen. Die Ursache hiervon sind nicht fettspaltende Bakterien, da ja in süßem Käse oft diese in größerer Zahl vorhanden waren als in scharfem Käse. Die Fettsäure wird durch Enzyme bewirkt, namentlich durch die Lipase von *Oidium lactis*. Dieser Pilz kommt in der enzymhaltigen Fettschicht vor, die zu entfernen ist, da sonst der Käse infolge Kontaktinfektion einen scharfen Geschmack annimmt. Der „scharfe“ Brinsenkäse hat während der Reifung eine hellorangene Farbe, ist trocken, zerbröckelt, riecht scharf und schimmelt nie. Der „süße“ Käse hat normale Konsistenz, wird klebrig, schimmelt, wenn er frei an der Luft liegt. Will man keinen scharf schmeckenden Käse, so entferne man die fettspaltende Enzyme besitzende Kruste.

Matouschek (Wien).

**Kürsteiner, J., Vergleichende praktische Käsereiversuche auf exakter Grundlage.** (Jahresber. d. Bern. Molkereischule Rütli. 28. 1915. p. 18.)

Es wird auf Grund vergleichender Käsuversuche mit Liebefeldreinkulturlab und Käsereikulturlab, gleicher Milch und gleichem Herstellungsverfahren der Nachweis der Gleichwertigkeit der in der Käserei selbst bereiteten Milchsäurebakterienkultur (Käsereikultur) gegenüber Liebefelder Laboratoriumsreinkultur geleistet. Einige bei der fortlaufenden Kontrolle der Käsereikultur erhaltene Resultate liegen in folgender gekürzter Tabelle vor.

Kontrolle der Käsereikultur.

Datum	Temperatur der Kultur		Säuregrad der Kultur sofort nach dem Impfen	Säuregrad der reifen, 24 Std. alten Kultur		Mikroskopisches Bild	
	beim Ansatz ° C	nach 24 Std. ° C		Oberste Schicht der Kultur = Sauer und Material für die Labvorbehandlung	Unterste Schicht der Kultur (Bodensatz) = Material für die Überimpfung bzw. Weiterzuchtung	Oberste Schicht der Kultur	Unterste Schicht der Kultur
1914							
13. Nov.	52	36	10	36	57	Ausschließlich unbewegliche Stäbchen verschiedener Länge	Ausschließlich unbewegliche, sehr lange Stäbchen.
14. Nov.	52	36	10	36	57		
17. Nov.	52	35	9	35	51		
18. Nov.	52	37	9	37	60		

Das Wichtigste, was bei richtiger Herstellung und täglicher Anwendung der Käsereikultur erreicht wird, ist:

1. beständig gleichmäßiger, reiner Sauer zum Scheiden; 2. beständig gleiche Kultur für die Vorbehandlung der Magen bzw. des Labpulvers; 3. gleichmäßige Beschaffenheit des Labes, sichere Vermeidung von Blählab und damit Verhütung der „Preßler“, die durch blähendes Lab verursacht werden.

Zum Schluß wird auf die mit der Arbeitsweise der täglichen Verwendung von Käsereikultur verbundene, wesentlich vermehrte Betriebssicherheit hingewiesen. Die bis jetzt gemachten Erfahrungen bei der Herstellung von Naturlab-Emmentalerkäsen mit täglicher Verwendung der Käsereikultur sprechen für die Wünschbarkeit der allgemeinen Anwendung derselben in den Emmentalerkäsereien.

A u t o r e f e r a t.

**Burri, R., Aus dem Leben der Käsereibakterien.** (Schweiz. Milchzeitg. Jg. 41. 1915. No. 92.)

Verf. spricht in diesem, vor Praktikern gehaltenen Vortrag umfassend über die Notwendigkeit der Mitwirkung der wichtigsten Milch-, Lab- und Käsebakterien bei der normalen Abwicklung der die Entstehung des Käses bedingenden Prozesse. Die Diskussion der von der praktischen Käsereibakteriologie ausgehenden Verbesserungsbestrebungen im Emmentaler Käsereibetrieb streift die Frage der Milchreifung und befaßt sich mit dem Prinzip der Reinkultur bei der Sauer- und Labbereitung, insbesondere mit

der durch die Anwendung der Grundsätze der natürlichen Reinkultur möglich gewordenen Neuerung, den Käser in einfacher und zuverlässiger Weise instand zu setzen, eine Sauer- und Labreifungskultur (Milchsäurebakterienkultur, Käseurkultur) selbst herzustellen. Mit dem Hinweis auf die lückenhaften Kenntnisse der eigentlichen Käseurkeimarten und die noch nicht endgültig beantwortete Frage, ob die in der Käseurkultur gezüchteten Milchsäurebakterien als die wichtigsten Käseurkeimarten angesehen werden müssen, schließt der Vortrag. Kürsteiner (Liebefeld-Bern).

**Burri, R. u. Staub, W.,** Zur Kenntnis der in reifem Emmentalerkäse vorherrschenden Bakterien. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1915. p. 625—640.)

Nach Ed. v. Freudenreichs grundlegenden Arbeiten über die Erreger der Reifung des normalen Emmentalerkäses ist das Studium der Käse-Fehlgärungen derart in den Vordergrund getreten, daß man heute über die Erreger der verschiedenen Milch- und Käsefehler mindestens so gut oder besser unterrichtet ist, als über jene Mikroorganismen, welche im Käse bei normalem Betriebe tagtäglich ihre nützliche Arbeit verrichten und so eine der Grundquellen seiner gedeihlichen Entwicklung bilden. Allerdings haben sich in neuerer Zeit E. E. Eldredge und L. A. Rogers unter Aufwand eines beträchtlichen Materials mit der Bakteriologie des nach Emmentalerart hergestellten Käses befaßt, ohne indessen ein Ergebnis beizubringen, das die Kenntnis der tatsächlichen Verhältnisse wesentlich bereichert hätte. Vorliegende Arbeit enthält die Resultate der eingehenden bakteriologischen Untersuchung einer größeren Zahl von Emmentalerkäseproben, die alle aus Lagern schweizerischer Exporteure stammen und nur Käse betreffen, die von den Lagerbesitzern selbst als Prima-Ware bezeichnet wurden. In Berücksichtigung kamen nur die der Zahl nach durchaus überwiegenden Arten, die einer besonders gründlichen Untersuchung unterlagen. Dabei leistete ein von den Verff. als Nadelprobe bezeichnetes Verfahren, das den Nachweis der Gasbildung in kleinsten Mengen ermöglicht, ausgezeichnete Dienste. Es handelt sich bei dieser Prüfungsmethode um die ruhige Einführung einer nicht allzu dicken, geglühten Platinnadel in einen von unzähligen Kolonien besetzten, durch Säurebildung getrübbten, scheinbar absolut gasfreien Nährbodenzyylinder, z. B. Peptonschottenagar, im Reagenzglas. Unmittelbar nach dem Herausziehen der Nadel, oder bald nachher, zeigen sich in der Ausdehnung des Stiches kleinere oder größere Gasbläschen, die sich mitunter so rasch vergrößern, daß ein Spalten des gallertartigen Nährbodens eintritt. Offenbar kommt hierbei die Entbindung von Gas in Frage, mit welchem der Nährboden übersättigt war. Anlaß zu dieser Entbindung, die sich mit einer gewissen Plötzlichkeit vollzieht, gibt die Strukturstörung bzw. die Veränderung der Druckverhältnisse, welche in der homogenen Nährgallerte durch die eindringende Platinnadel hervorgerufen wird. An Hand der aus dem gesamten Untersuchungsmaterial sich ergebenden Typen bzw. Arten versuchten die Verff. folgende Fragen zu beantworten: 1. welche der von uns isolierten Arten lassen sich mit den von v. Freudenreich und seinen Mitarbeitern beschriebenen Arten identifizieren? 2. Befinden sich unter den von uns aus Käse abgeschiedenen Arten sämtliche der von v. Freudenreich aus Käse gezüchteten und beschriebenen Arten? 3. Sind unter den von uns aus Prima-Käse isolierten Arten solche, die durch v. Freudenreich noch nicht beschrieben wurden? 4. In welchem Ver-

hältnis stehen die von uns isolierten Arten bezüglich der Häufigkeit ihres Vorkommens im Käse zu einander? Die Antworten auf diese Fragen sind der Hauptsache nach in folgender Zusammenfassung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit enthalten:

1. Die Untersuchung von 20 im vorgeschrittenen Reifungsstadium befindlichen prima Emmentalerkäsen hat ergeben, daß darin pro 1 g immer noch rund 10 bis 100 Millionen lebende Bakterien vorhanden sind.

2. Diese Bakterienmengen setzen sich hauptsächlich nur aus zwei Arten, nämlich aus dem seinerzeit durch v. Freudenreich aus Emmentalerkäse isolierten *Bact. casei*  $\alpha$  und *Bact. casei*  $\delta$  zusammen. Das Verhältnis der beiden Arten ist ein wechselndes, indem bald die eine, bald die andere mehr in den Vordergrund tritt.

3. Das ebenfalls durch v. Freudenreich aus Sauer, Lab und Käse isolierte *Bact. casei*  $\epsilon$ , das im ein Tag alten Käse zu den entschieden vorherrschenden Arten gehört, wurde von uns bei einem drei Monate alten Käse noch in der Menge von 5 Proz. der Gesamtbakterienzahl angetroffen, schien aber bei 19 Käsen, die im Alter von 5 bis 6 Monaten waren, vollständig zu fehlen.

4. Dieses Verhalten läßt berechnete Zweifel darüber aufkommen, ob *Bact. casei*  $\epsilon$  die Hauptrolle bei der Reifung des Emmentalerkäses spielt, wie bisher ziemlich allgemein angenommen wurde. Es wäre sehr wohl möglich, daß dem *Bact. casei*  $\alpha$  diese Rolle zukommt, das über ähnliche Angriffsmittel dem Käsestoff gegenüber verfügt wie *Bact. casei*  $\epsilon$ .

5. Da auch die Propionsäurebakterien zu den im Emmentalerkäse bei vorgeschrittenem Reifungsstadium in beträchtlicher Zahl regelmäßig vorkommenden Bakterien zu gehören scheinen, bleibt die Frage offen, ob diese gasbildende Gruppe oder das ebenfalls gasbildende *Bact. casei*  $\delta$  oder beide zusammen die Lochbildung bewirken.

Kürsteiner (Liebefeld-Bern).

Thom, Charles, and Matheson, K. J., Biology of Roquefort Cheese. (Storrs Agric. Expt. Stat. Bull. 79. 1914. p. 335—347.)

The flora of Roquefort cheese consists of the Roquefort mold (*Penicillium roqueforti*), bacteria of the common lactic type (*Bact. lactis acidii* group) and of the *Bacillus bulgaricus* group in small numbers, some liquefying organisms, yeasts in small numbers and the varied flora of the surface slime.

The organisms of the slime, yeasts, bacteria and *Oidium lactis* have been eliminated in paraffining experiments completely enough to leave them only a secondary function in ripening the cheese. The slime in normal amount has been found to be a correct index to proper ripening room conditions, however.

The lactic bacteria account for the primary souring of the curd which should take place within the first twenty-four hours, thus eliminating gassy fermentation. The low temperatures used reduce the activity of the *B. bulgaricus* to negligible amounts during the early stages of the ripening. The extent to which organisms of this group participate in the ripening changes has not been determined.

The dominance of *P. roqueforti* within the cheese is secured by the low oxygen content of the open spaces and by the high salt content which excludes *Oidium lactis*. Known activities of *P. roqueforti* through enzyme production are the reduction of acidity, proteolysis of casein and

partial decomposition of fat. These appear to be the principal factors in ripening the cheese, although some participation in the processes by the bacteria and yeasts found is not excluded by any work thus far possible.

From the study of acidity in Roquefort curd the following results are deemed important. With initial acidities of 0.25 per cent or higher in milk and temperature of 84° F (29° C) the production of acid becomes very rapid within the first two hours. Graphs representing the rate of rise of acidity become parallel or nearly so after the percentage reaches 0.25 to 0.27 per cent. Below this percentage great diversity in the rate of souring represents the differences in chemical composition of the sample of milk, the variations due to vigor of culture, amount of inoculation, temperature and perhaps other factors. The acidity produced during the first two and one-half or three hours will be enough to change the texture of the curd if the initial percentage is 0.25 or if during that period the amount shown in the milk passes 0.27 to 0.30 according to the other conditions present.

At acidities of 0.21 or lower the development of acid is too slow to give sufficient aid in proper drainage of when from the curd. To obtain a margin of safety in the production of a smooth, friable curd, free from waxy, granular or tough characteristics, the initial acidity should not pass 0.23 per cent. 0.23 per cent approaches, therefore, the optimum initial acidity in milk for this type of cheese.

With a vigorous pure culture of the *Bact. lactis acidii* group as a starter the initial acidity may be obtained with equally good results by adding enough starter to raise the titration figure of the milk to 0.23 per cent, or by the use of a little starter with a subsequent ripening period. The former practice is usually preferable as an economy of time.

At the working temperature of Roquefort, the organisms of the *B. bulgaricus* group are not a factor in the initial souring.

The low temperatures that characterize this process make desirable the use of a large enough amount of starter to insure the dominance of the lactic organism of the starter over any variety which may be accidentally present. Comparison of the graphs showing the rate of development of acid under Cheddar and Roquefort conditions show that this amount of inoculation (the percentage of starter used) will need to be greater in Roquefort than in Cheddar to secure the same protection from the acid organisms.

#### Author abstract.

**Bosley, Thomas J., and Sandman, Edgar A.,** A comparison between the twenty degree and the thirty-seven degree plate counts for enumerating bacteria in water. (Americ. Journ. of Public Health. Vol. IV. 1914. p. 1179—1181.)

The average bacterial counts at 20° were about ten times as great as at 37° in plates inoculated with samples of water. But the authors withhold their decision as to whether this increase in the material count is advantageous in determining water pollution. A. C. Evans (Washington).

**Emmerling, O.,** *Praktikum der chemischen, biologischen und bakteriologischen Wasseruntersuchung.* (Sammlung naturw. Prakt. IV.) Berlin (Bornträger) 1914. 7,20 Mk.

Das Buch eignet sich wirklich für den, der solche Arbeiten allein insgesamt durchführen muß. Die Gliederung des Werkes ist folgende: I. Che-



mische Untersuchung, und zwar die des Genuß- und Gebrauchswassers, der Mineralwässer und der Abwässer. II. Biologisch-Mikroskopische Untersuchung und zwar der Bodensätze, des Schlammes auf leblosem Materiale. Oligo-, Meso- und Polysaprobier. III. Bakteriologische Wasseruntersuchung. Allgemeines, Probeentnahme, Zählen der Kolonien, die häufigen Bakterien im Wasser, Nachweis von *Bacillus coli*, *B. typhi*, *B. anthracis*, *Vibrio Cholerae*. Zucht anaërober Bakterien. Reagentien. Die Beurteilung des Wassers. Matouschek (Wien).

**Wilhelmi, Julius**, Kompendium der biologischen Beurteilung des Wassers. Jena (G. Fischer). 1915. Broschiert 2,60 M.

Ein sehr guter Überblick über den gegenwärtigen Stand der biologischen Wasserforschung, wie er durch die Arbeiten und Untersuchungsmethoden von Hofer, Kolkwitz, Lauterborn, Marsson, Mez, Schiemenz, Thienemann u. a. erreicht wurde. Die Figuren beziehen sich zumeist auf Organismen und sind Originalzeichnungen, zumeist von E. Nitardy ausgeführt. Matouschek (Wien).

**Huntemüller**, Wasserversorgung und Kanalisation im alten und heutigen Jerusalem. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81. p. 257 ff.)

In vorliegender Arbeit berichtet Verf. nach ägyptischen Quellen über die Geschichte Jerusalems vom Ende des 15. Jahrhunderts v. Chr. zunächst über dessen Stellung unter den Städten Südpalästinas in vorchristlicher Zeit. Dann schließen sich Mitteilungen über die heutigen klimatischen und hydrographischen Verhältnisse an, wonach z. B. Jerusalem in 6 Monaten 661,8 mm Niederschlagsmenge hat, während solche z. B. in Berlin 580 mm betragen. Im ersten Falle aber dringt von dem Regenwasser nur sehr wenig in den harten steinigen Boden ein und bei dem reichlichen Gefälle führt das eingetrocknete Flußbett große Regenmengen in raschem Laufe fort, um nach der Regenzeit, da auch keine größeren Waldbestände vorhanden sind, wieder zu versiegen. So war man immer meist nur auf Sammlung von Regenwasser in offenen Teichen und Zisternen angewiesen. Schon in vorrömischer Zeit hat man daher begonnen, von weither Wasser in die Stadt zu leiten und aus den Geschichtsangaben zeigt sich, daß in den Jahren 99—90 v. Chr. eine reiche Wasserzuleitung bestand, welche überflüssiges Wasser zur Aufspeicherung in den Teichen sammelte, um auch während der langen Trockenperiode das kostbare Naß zur Verfügung zu haben. — Viele dem Texte eingefügte Bilder zeigen die alten Baureste von Stadtmauern und Wasserleitung. Einzelne Teiche stehen noch heutigen Tages in Verbindung mit der noch in Betrieb befindlichen Leitung und auch für Regenwasser sind Zuflüsse vorhanden. Ein besonderer Plan zeigt ferner die noch im Betrieb befindliche Kanalisation der Altstadt. Die von Pilatus angelegte Wasserleitung hatte eine Länge von 75 Kilometer und beweist den hohen Grad der damaligen Wasserbautechnik und aus den herumliegenden Steinblöcken und Quadern schließt man auf die früher vorhandenen römischen Quellstuben. Das Quellgebiet umfaßt eine etwa 8 qkm große, von Bergen umgebene Fläche. In einzelnen der alten Quellstuben findet sich sogar noch heutigentages zuweilen etwas Wasser und die vorhandenen Baureste geben ein interessantes Bild der früheren Größe, welcher jetzt nur das dürftige Zisternensystem

gegenübersteht, da die 1901 wiederhergestellte Leitung von den Salomonischen Teichen völlig ungenügend ist. Die Allgemeinheit muß das aufgesammelte Regenwasser aus den Zisternen zum Trinken benutzen, da nur reiche Leute sich das aus der bergigen Umgebung herbeigeholte Quellwasser zum Genusse leisten können. G. Franghia hat 1894 der Stadtverwaltung beachtenswerte Vorschläge gemacht, indem er eine 23 km lange Leitung projektierte, die aus wasserreichen Gegenden gespeist wurde. Da aber bei einer Einwohnerzahl von 90 000 Köpfen (1893) nur etwa 35—40 l Wasser auf den Kopf fallen würden und die Kosten 2 Millionen Frs. betragen, so mußte beim Baue auch noch auf Aufschließen anderer Quellen gerechnet werden, für deren Wahrscheinlichkeit auch die Verhältnisse sprechen. Ferner muß an eine Filter- resp. Entkeimungsanlage gedacht werden, da das Wasser aus teilweise bewohnten Gegenden stammt und der durchlässige Boden hygienische Bedenken hervorruft. Für die höher gelegenen Stadtteile Jerusalems muß ein mit Druckanlage versehener Hochbehälter geschaffen werden. Noch ein 2. Projekt liegt vor, dessen Ausführung aber auch durch den Weltkrieg verschoben wurde. Hoffentlich kommt nach demselben das von deutscher Seite geplante Unternehmen zustande. An die Wasserleitung muß sich aber unter allen Umständen eine gerade in diesem heißen Klima sehr notwendige Kanalisation anschließen. Aus einem beigefügten Plane ist der Gang der aus römischer Zeit stammenden Kanalisation ersichtlich, welcher die verlassenen und auch die noch benutzten Teilstrecken zeigt. — Für Rieselfelder wäre genügend Platz vorhanden. — Es ergibt sich aus der sehr lesenswerten Arbeit, daß, da das alte Jerusalem Wasserleitung und Kanalisation in ausreichendem Maße hatte, die heutigentages im Betriebe befindlichen Anlagen nur noch traurige Überreste sind und daß somit eine hygienisch und technisch einwandfreie Kanalisation und Wasserleitung erforderlich ist.

Rullmann (München).

**Lavanchy, C. J., Contribution à l'étude de la flore bactérienne du Lac de Genève.** (Univ. Genève, Inst. bot. Prof. Chodat. Sér. 8. Fasc. 12. 1914. p. 68.)

In der Einleitung bespricht Verf. die Verteilung des Planktons, die Theorie der Selbstreinigung des Wassers (Kolwitz), die Symbiose zwischen *Azotobacter* und Algen (Benecke etc.), den reichlich großen Überfluß von  $\text{CO}_2$ , der das Leben der Chlorophyll besitzenden Algen begünstigt und die rasche Auflösung der Schalengehäuse oder Skelette von Tieren bewirkt, den Einfluß des Lichts und der Windstille auf die Verringerung der Zahl der Keime und ihre Verteilung.

In der eigentlichen Arbeit studierte Verf. namentlich die Zusammensetzung der bakteriologischen Flora („Blüte“). Die Kultur der aus verschiedener Tiefe geschöpften Arten auf diversen Nährsubstraten ergab 24 verschiedene Arten, von denen 22 neue sind. Die andern zwei Arten sind:

1. *Bacillus fluorescens liquefaciens* Flügge, 2. *Bacillus fluorescens non liquefaciens* Motsch. Er isolierte bei beiden Arten je eine Abart *luteus*, deren Pigment rasch braun wird. Das betreffende Pigment (ein fluoreszierendes Grün) wird bei Gegenwart von Alkalien lebhafter, verschwindet aber in Säuren nach einer Phase von bläulicher Irisation. Das Braunwerden hat seinen Grund in einer Oxydation, begünstigt durch die Gegenwart von Glucose. Die erstgenannte Art bringt die Milch zum Gerinnen; die Produktin von Säure kann durch  $\text{Ca CO}_3$  neutralisiert werden; das Koagulum wird peptonisiert. Diese Wirkung

ist unbeständig, sie führt zu mehreren biologischen Rassen. Die chromogene Funktion verringert sich infolge einer Serie von sukzessiven Kulturen auf gleichem Nährsubstrat und infolge einer Überpflanzung auf verschiedene Nährsubstrate. Beide oben genannten Arten peptonisieren stark die Albuminoide und es kommt zu einer völligen Degradation ( $\text{NH}_3$ ). Sie zerstören die Kadaver bei Abwesenheit der anaerobischen Mikroben, was recht wichtig ist. Der Ammoniak wird durch nitrifizierende Bakterien aufgenommen, welche in Symbiose mit den Algen des Planktons leben. Hierbei spielt das *B. fluorescens non liquefaciens* (das Gelatine nicht verflüssigt und die Milch nicht peptonisiert) eine geringere Rolle.

Unter den neuen Arten gibt es ungefärbte:

*Bacillus noviodemensis* (nahe verwandt mit *B. Trambustii* Kruse);

*Bacterium lacustre*;

*Bacterium Chodati* (oxydiert den ammoniakalischen Stickstoff zu Salpetersäure);

*Bacterium lemanense* I—V (5 schwer zu unterscheidende Arten, nicht liquefacientes, auf die Milch nicht einwirkend, die Milieux mit Peptonen alkalisierend, nur in den Kulturen von einander zu unterscheiden;

*Bacterium planktonicum*;

*Bacterium Seileri*;

*Micrococcus subcandicans*;

*Pseudomonas cordonensis*, *Ps. Dufourei*, *Ps. Lenderi*, *Ps. rhodanensis*; *Ps. rollensis*, mit je 1 Cilie;

*Pseudomonas Forelii* mit einem Wimperbüschel;

*Oospora lacustris* (*Streptothrix* mit wirklicher Verzweigung, saprophil, auch auf mineralischem Milieu vegetierend).

Gefärbte neue Arten sind:

*Bacterium genevense* (eiergelb);

*B. Harpae* (kanariengelb);

*Pseudomonas rubrolutea* (1 Zilie, orange gelb) lebt gern auf mineralischen Nährsubstanzen, oxydiert den ammoniakalischen Stickstoff zu Salpetersäure; das Pigment (genannt „rubrolutéine“) konnte extrahiert werden, und ist auflösbar in Alkohol, Äther, Chloroform, wenig aber in Wasser).

Chodat fand einen der letztgenannten Art ähnlichen Mikroben in Algenkulturen, was auf einen Commensualismus zwischen Phytoplankton und der nitrifizierenden *Pseudomonas* hinweisen würde.

Verf. fand auch einen Mikroben mit violettem Pigment, widerstandsfähig gegen Säuren, aber er konnte bisher nicht kultiviert werden.

Alle diese neuen Arten sind aerob; einige reagieren schwach auf das Indol (z. B. *Oospora lacustris*, *Pseudomonas rollensis*, *Ps. cordonensis*, *Bact. Chodati*). — Die Arbeit gibt uns neue Winke zum Studium des Stickstoff-Kreislaufes und Bausteine zu den Hypothesen der lacustren Biologie.

Matouschek (Wien).

**Browne, William W.**, Predominance among the members of the *Bacillus coli* group in artificially stored water. (Journ. Inf. Diseases. Vol. 17. 1915. p. 72—78.)

Flasks of water inoculated with human feces were allowed to stand for several weeks to determine whether there was a significant change in the

percentage of the various members of the *Bacillus coli* group. The author found that *Bacillus communior*, a dulcitate-fermenting organism, which has been regarded as an index to recent contamination, not only holds its own, but increases in prevalence during storage. *Bacillus communis*, another dulcitate-fermenter, decreases very slowly and gradually. The presence of light or darkness does not seem to affect the ratio of the four groups of *Bacillus coli*.  
A. C. Evans (Washington).

**Gothé, F.,** Über das Rheinsche Verfahren zur Trinkwassersterilisation im Felde. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 79. 1915. H. 3.)

In dem 78. Bande dieser Zeitschrift p. 562 ff. hat Rhein ein neues Verfahren zur Trinkwassersterilisation im Felde veröffentlicht, welches innerhalb 5 Minuten bis zu 4 Millionen Colikeime in 1 ccm völlig abtöten soll. Nach Gothés Angaben sind aber Rhein bei Beschreibung des chemischen Vorgangs mehrere Irrtümer unterlaufen, die er in der vorliegenden Arbeit erörtert; während der bakteriologische Teil des Rheinschen Verfahrens durch die desinfizierende Wirkung des Chlors nicht in Zweifel gezogen wird, wird der Nachteil, der auf dem schematischen Salzsäurezusatz beruht, hervorgehoben, da nach dem schwankenden Karbonatgehalt der einzelnen Wasser die zugesetzte Säure mehr oder weniger abgestumpft wird. Hierfür sind beweisende Beispiele angegeben. Infolgedessen kommt das Chlor nur unvollkommen zur Geltung und damit ist der eigentliche Zweck des Verfahrens verfehlt. Ferner spricht gegen die praktische Brauchbarkeit des Verfahrens nach Rheins eigener Angabe die Unzuverlässigkeit bei stärker verschmutzten Wässern. Auch daß infolge chemischer Umsetzungen viele, auch gesundheitsschädliche Salze ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) in das Wasser gelangen resp. entstehen können und zuletzt das Bedenken, daß untergeordnetem Personal das genaue Abmessen stark ätzender Flüssigkeiten, wie konz. Salzsäure und Antiformin anvertraut werden muß.

Dann wird noch auf eine Abhandlung von H. Kühl (Zeitschr. für öffentl. Chemie 1914) „Die Desinfektion des Wassers im Felde“ verwiesen; die wichtigsten Punkte sind hierbei: 1. Abkochen des filtrierten Wassers mit nachfolgender Beseitigung des Kochgeschmackes; 2. Filtration unter Benutzung geprüfter und im Gebrauche überwachter Berkefeld- und Hausfilter und 3. die Ozonisierung des filtrierten und eventuell von Eisen befreiten Wassers.  
Rullmann (München).

**Jötten, K. W.,** Selbstbereitung von einwandfreiem Trinkwasser im Felde. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81. p. 208 u. ff.)

Nach kurzer Erwähnung von den während der jetzigen Kriegszeit vielfach angestellten ähnlichen Versuchen, geht Verf. auf seine eigenen über, wobei er das schon früher erwähnte Wesenbergsche Chlorkalkpräparat verwendet. Nach vielen Bemühungen, welche sich hauptsächlich auf Gewinnung eines tunlichst geschmacklosen, klaren und hauptsächlich keimfreien Wassers beziehen, ist es ihm möglich gewesen, eine Methode zu finden, welche nur für den Bewegungskrieg gedacht ist und zwar für die Fälle, wo eine kleine Truppe auf sich allein angewiesen ist und die sonst gebräuchlichen Methoden nicht anwendbar sind. Seine Vorschläge hierzu gehen dahin, daß man 1 l des zu sterilisierenden Wassers mit 300 mg Osmosil und 200 mg Aluminosulfat versetzt und lebhaft umrührt, dann nach 1—1½ Minuten

durch ein Moltonfalzfilter filtriert und dem Filtrat 50 mg Chlorkalk-Wesenberg zusetzt, und abermals kräftig umrührt. Dann wird nach abermals 2 Minuten das Chlor durch 110 mg Natriumsulfit neutralisiert und entweder zur Geschmacksverbesserung 0,5 g Zitronensäure und die gleiche Menge Zitronenölzucker beigelegt, welcher letzterer Zusatz eine leichte Trübung hervorruft. Die etwas gegen frühere Versuche erhöhte Chlorkalkmenge ist als Sicherheitsdosis für stark verunreinigte und Fäulnisstoffe enthaltende Wässer angegeben und sollten wirklich einmal stark kothaltige, getrübe Wässer zur Verwendung unumgänglich notwendig sein, dann müssen auch die Osmosil- und Aluminulfatmengen verdoppelt werden, wodurch ein intensiverer Niederschlag hervorgerufen wird. — Die erforderlichen Chemikalien können sämtlich in Pulver- und Tablettenform hergestellt und ebenso wie die Wesenbergschen Präparate verpackt werden. Auf die beigelegten drei Tabellen mit den Resultaten sei besonders verwiesen. Es dürfte aber dieses Verfahren zu genanntem Zwecke an Einfachheit zu wünschen übrig lassen. Rullmann (München).

**Weichhardt, W. u. Wolff, M.,** Über einige handliche chemische Verfahren, kleine Mengen Trinkwasser zu entkeimen. (Öffentl. Gesundheitspflege. Jg. 1. 1916. H. 3 u. 4.)

Eingangs ihrer Veröffentlichung stellen Verff. diejenigen Erfahrungen zusammen, welche sich bei der erforderlich gewordenen Herstellung kleiner, zu entkeimender Wassermengen ergaben. Auch wird auf die hierzu dienenden Präparate verwiesen, von welchen einzelne, wie z. B. Katacidtabletten, die gemachten Versprechungen nicht erfüllten. Als besondere Aufgabe führten die Verff. die Prüfung derjenigen Desinfektionsmittel aus, welche für den Feldgebrauch in handliche Form gebracht sind, wobei auch auf die chemische Seite besonderer Wert gelegt wird. Da unter Umständen ein einziger virulenter Keim bei empfindlichen Personen die Erkrankung auslösen kann, so wird besondere Aufmerksamkeit darauf gelegt, daß wirklich alle entwicklungsfähigen pathogenen Keime vernichtet sind. Hierzu wird die Schüder'sche Anreicherungs-methode empfohlen, welche allein genauen Aufschluß gibt. Einige neuere Sterilisationsverfahren werden sodann eingehend erörtert, zunächst dasjenige mit hochprozentigem Chlorkalk, welches sehr zu empfehlen ist. Bezüglich der unzweifelhaften starken bakteriziden Kraft des Chlorkalkes sind auch heute noch die Anschauungen getrennt, da man annimmt, daß dieselbe nicht nur auf Oxydationsvorgängen, sondern auch auf spezifischen Eigenschaften beruht. Eine zahlreiche Literatur ist über dieses Thema erschienen. Besondere Wichtigkeit hat jetzt ein neues Präparat, welches der Griesheimer Fabrik Elektron durch Herstellung eines 80-proz. Chlorkalkes gelang. Ferner bringt jetzt unter dem Namen Désazon Fr. Bayer in Leverkusen ein Desinfektionsmittel in den Handel, welches in zwei verschiedenartigen Fläschchen eine bestimmte Menge hochprozentigen Chlorkalkes und ebenso ein hochprozentiges Wasserstoffsuperoxydkarbamidpräparat (Ortizon) enthält, welche, zusammengegossen, 1 l Wasser in 10—12 Minuten keimfrei machen. Durch diesen Zusatz werden in angegebener Zeit alle pathogenen Keime vernichtet und das später hinzugefügte Ortizon macht den überschüssigen Chlorkalk unschädlich. Die vollendete Keimtötung wurde durch entsprechende Versuche (p. 159) bewiesen. — Die bestätigenden Versuche der Verff. folgen, wobei auch das Schüder'sche Verfahren genau geschildert wird und Typhus-, Cholera- und Dysenterie-

stämme zur Untersuchung gelangten. In Tabelle V sind die bakteriologischen Ergebnisse zusammengestellt; die Versuche wurden mit ganz verschiedenartig zusammengesetzten Wässern durchgeführt und die verwendeten Bakterienarten in solchen Mengen eingesät, wie solche in der Praxis nie vorkommen dürften. Trotz dieser strengen Bedingungen ergaben 36 Versuche, daß nur in zwei Fällen (Typhus) eine Kolonie der Abtötung entgangen war und selbst da gelang der Nachweis derselben erst mittels des Anreicherungsverfahrens, also auch unter Entwicklungsmöglichkeiten, wie solche in der Praxis ausgeschlossen sind. Wenn aber in einigen Fällen vereinzelt auch der Dampfsterilisation widerstehende Wasserkeime nachgewiesen werden konnten, so schädigt solches das berechtigte Vertrauen auf die Desazonmethode nicht, da solches meist Sporenbildner sind, die chemisch schwer beeinflussbar, gesundheitlich aber ohne Belang sind. — Das so behandelte Wasser zeigt eine geringe, sich rasch absetzende Trübung; Chlor ist weder durch Geschmack noch Geruch, aber auch auf chemischem Wege nicht nachweisbar, während Reste von Wasserstoffsuperoxyd noch vorhanden sind.

Im 2. Teil wird das Permanganatverfahren besprochen. Die ersten Versuche, die starke Oxydationskraft des Permanganats zur Wasserreinigung zu verwenden, wurden schon 1870 bekannt und viele Arbeiten bauten hierauf Keimabtötung und Sterilisationsversuche auf. Beigegebene Tabellen und die eigenen Versuche der Verff. zeigen die nicht immer einwandfreien Ergebnisse, auch bezüglich des Aussehens und Geschmacks bleibt noch zu wünschen übrig, so daß kaum an eine Benutzung im Felde gedacht werden kann. — Das dann folgende physikalisch-chemische Verfahren erwähnt zunächst dasjenige mit Humin als eine kolloidchemische Einwirkung zur Entkeimung von Oberflächenwasser mit Beziehung auf die Trinkwasserversorgung im Felde, welches von Strell beschrieben wird. Hierbei wird die langbekannte Fähigkeit des Ackerbodens zur Festhaltung suspendierter Stoffe aus Schmutzwasser, aber auch Sedimentierung gelöster Substanzen angewendet; diese Eigenschaft kommt besonders den Huminsubstanzen zu und auch hierbei haben viele Autoren weiter geforscht, wobei sich ergab, daß z. B. die gepulverte Braunkohle nicht als solche, sondern die in ihr, auch im Torf und ähnlichen Körpern enthaltenen humosen Bestandteile in Betracht kommen. Haben diese ihre absorbierende Wirkung ausgeübt, dann werden durch Zusatz von Metallsalzen unlösliche, großflockige Niederschläge gebildet, in welchen die feinsten schwebenden und verunreinigenden Wasserteilchen zu Boden sinken. Seit einiger Zeit erst ist es gelungen, das Humin zu isolieren; bringt man dessen Lösung mit verunreinigtem Wasser unter kräftigem Schütteln zusammen und setzt einige ccm Eisenchlorid- oder Huminsulfatlösung zu, dann bildet sich ein rasch absetzender Niederschlag, welcher alle feinst verteilten Stoffe und Mikroorganismen zu Boden reißt, so daß die überstehende Flüssigkeit klar und farblos wird. Auch bei gleicher Behandlung von Abwässern wurde eine Minderung an Bakterien bemerkt, da eine verminderte Fäulnisfähigkeit eintrat. Strell konnte dann bakteriologisch diese Tatsache beweisen und gelang es ihm beispielsweise aus einem 84 960 Keime haltigen Rohwasser die Keime bis auf 4—8 herabzudrücken und bei nochmaligem Zusatz der Hälfte des Fällungsmittels das Wasser vollkommen keimfrei zu machen. Nach diesen günstigen Ergebnissen ist die Verwendung im Felde wohl möglich, da die Chemikalien sich leicht mitführen lassen, ein zur Fällung geeignetes Gefäß überall erhältlich ist und ein zum Filtrieren notwendiges Baumwollflanelltuch leicht

beigepackt und immer wieder gewaschen werden kann. Ein geringer Huminsulfatüberschuß aber ist belanglos. Die Verff. gingen nach diesen Versuchen zum Zusatze von pathogenen Keimen über, indem sie sterilisiertem Wasser solche beigaben. Tabelle IX zeigt den genauen Gang des Versuches, welcher zeigt, daß in 6 Fällen bei dreien schon nach der ersten Behandlung Sterilität eintrat; ein weiterer Versuch ergab solche bei der zweiten Behandlung, so daß nur zwei Fälle blieben, bei denen überhaupt noch Keime nachweisbar waren, unter welchen sich aber keine der zugesetzten pathogenen befanden. Bei dem strengeren Schüdderschen Nachweisverfahren durch Anreicherung der gesamten Wassermenge unter Peptonzusatz wuchsen allerdings noch in zwei weiteren Fällen sowohl Typhus als auch Cholerabazillen, während auf den Plattenkulturen keine Krankheitserreger mehr auftraten. Das Huminverfahren kann daher unter Umständen Verwendung finden, jedenfalls aber ist dem hochprozentigen Chlorkalkverfahren der Vorzug zu geben. — Den Schluß der sorgsamsten Arbeit bildet das Tierkohleverfahren. Die bekannte Adsorptionsfähigkeit der Tierkohle wurde von den verschiedensten Autoren auf das mögliche Zurückhalten pathogener Keime geprüft, mit dem Ergebnis, daß mittels pulverisierter Tierkohle Wasser in einfacher Weise keimfrei gemacht werden kann. Die Bearbeitung dieser Frage von Kraus und Barbara haben dann die Verff. nachgeprüft, aber leider gefunden, daß diese Prüfungsart strengen Ansprüchen nicht genügt. Die Einzelheiten sind von Interessenten zu durchlesen, um so mehr als die Verff. hoffen, durch eine praktische Vereinigung des Tierkohleverfahrens mit einem rein chemischen die Sterilität sicher erreichen zu können.

Am Ende der Arbeit stellen die Verff. folgende Resultate auf: Das Desazonverfahren der früheren Firma Fr. Bayer hat sich als sehr bequem und bakteriologisch völlig zuverlässig erwiesen und eine ungünstige Beeinflussung von Geschmack und Aussehen ist nicht feststellbar. Die Ergebnisse mit Permanganat sind nicht befriedigend, da kein stets zuverlässiges Resultat vorliegt und Aussehen und Geschmack der Verwendung im Wege stehen. — Humin- und Tierkohleverfahren sind bezüglich ihrer bakteriologischen Zuverlässigkeit noch zu verbessern, ehe die allgemeine Verwendung zu diesen Zwecken zu empfehlen ist. Bezüglich des Desazonverfahrens müssen die ziemlich hohen Kosten betont werden, während die beiden letzten Verfahren billig sind.

Rullmann (München).

**De Vogt, G., Untersuchungen über die bakterizide Wirkung der ultravioletten Strahlen.** (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81. p. 63 u. ff.)

Da auch heutigen Tages die eigentliche Ursache der bakteriziden Wirkung des ultravioletten Lichtes bei Trinkwassersterilisation noch nicht feststeht, so führt Verf. zunächst die von Henry und Cernovodeanu erbrachten Resultate an, um dann eigene Beobachtungen folgen zu lassen. Die genannten Autoren ermittelten, daß die Dicke der Wasserschicht von großem Einflusse ist und die bakterizide Wirkung in einem größeren Verhältnisse abnimmt als das Quadrat des Abstandes. Die Wirkung ist unabhängig von der Temperatur (0°—55°), ebenso unabhängig von dem Sauerstoffgehalt des Wassers, wie auch die von dem Wasser gebildete Ozonmenge nicht zur Sterilisation ausreicht. Verschiedene Mikroben wurden auch ungleichmäßig von dem Lichte beeinflußt, während der wirksamste Teil der Strahlen bei

280  $\mu\mu$  liegt. Nach diesen Sätzen ist anzunehmen, daß die desinfizierende Wirkung direkt auf der Einwirkung der Lichtstrahlen auf die Bakterienkörper beruht und nicht auf einer chemischen Veränderung des Wassers. Charitskoff glaubt dagegen, daß infolge der Lichteinwirkung eine chemische Änderung des Wassers eintritt und sich Wasserstoffoxyd bildet, welches bakterientötend wirkt. Des Verf.s eigene Versuche dagegen führten zu denselben Resultaten, wie die der vorhergenannten Autoren, wobei er die untergetauchte Heraeusche Lampe benutzte. Zum Nachweis der chemischen Änderung des Wassers muß dasselbe länger als zur Sterilisation erforderlich ist, der Lichtwirkung ausgesetzt werden. Wie aus der beigegebenen Abbildung hervorgeht, wird ein ununterbrochener Strom erreicht, um die durch Kontakt mit der Lichtquelle erwärmte Flüssigkeit zu kühlen und eine in das System eingeschaltete Flasche ermöglicht Probeentnahme. Zuerst wurde von verschiedenen Wasserproben die Permanganatzahl bestimmt, die bekanntlich nach der Sterilisation kleiner als vorher ist; beigegebene Untersuchungsergebnisse beweisen diese Tatsache. Während Henry und Cernovodeanu nach 50-minütigem Einwirken des ultravioletten Lichtes auf destilliertes Wasser Spuren von  $H_2O_2$  fanden, ist solches de Vogt mittels der Titanreaktion nicht gelungen. Verf. hat dann den Sauerstoffgehalt des Wassers kontrolliert, da solcher im gelösten Zustande bei der Desinfektion von Wichtigkeit ist, wobei er fand, daß dieser während des Brennens der Lampe sich nicht änderte, wie auch der Gehalt hieran der in dem Gefäße oberhalb des Wasserspiegels sich befindlichen Luft gleich blieb. — Möglich ist es, daß die Luft unter dem Einflusse ultravioletter Strahlen ozonisiert wird, Verf. bewies jedoch durch Einschaltung eines kleinen Brettes auf dem Wasserspiegel, derart, daß die direkte Strahlung des ultravioletten Lichtes auf die Luft verhindert wurde, daß die Ozonbildung in diesem Falle gänzlich unterblieb. Die Löslichkeit des Ozons in Wasser ist sehr gering; mit einer Lösung von 5 ccm in 1 l angestellte Versuche über die keimtötende Wirkung ergaben, daß die Bakteriensuspensionen, welche während 10—40 Minuten mit dem Ozonwasser in Berührung verblieben und auf Nährböden übertragen waren, bei + 37° kein Wachstum zeigten. Genannte Ozonkonzentration wird jedoch bei Sterilisation mit ultraviolettem Licht nicht erreicht und auch bei ständiger Durchströmung konnte mit der empfindlichen Titanreaktion kein Ozon nachgewiesen werden, außerdem ist auch die Zeit der Lichteinwirkung bei Wassersterilisation (30 Sekunden) zu kurz. Eine nur 1 ccm Ozon im Liter enthaltende Lösung reicht zur Desinfektion nicht aus. Leitete Verf. ozonhaltige Luft durch destilliertes Wasser, so trat keine bakterizide Wirkung ein, da derartiges Wasser zu colihaltiger Bouillon zugesetzt das Wachstum nicht verhinderte. Hiernach beruht die keimtötende Wirkung auf einer direkten Einwirkung der ultravioletten Lichtstrahlen ohne einen Zwischenstoff durch Vermittelung des Wassers.

Rullmann (München).

**Ditthorn, Fr., Beitrag zur Trinkwassersterilisation mit Chlor.** (Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 38.)

Anschließend an früher veröffentlichte und mehr oder minder zufriedenstellende Desinfektionsversuche mit Chlor bespricht Verf. ein besonders zu Kriegszeiten verwendbares Verfahren, welches Bayer u. Co. in Elberfeld aufgestellt haben. Dieselben haben ein haltbares, hochprozentiges Chlorpräparat (75 %) hergestellt und geben hierzu als Entchlörungsmittel eine gleichfalls haltbare, feste Verbindung von Wasserstoffsuperoxyd und Car-



bamid unter dem Namen **Ortiz on** ab. Mit diesen Präparaten vom Verf. angestellte Versuche ergaben günstige Resultate; die Anwendung erfolgt derart, daß man 0,2 g des Chlorpräparates = 0,14 cl einem Liter Wasser zusetzt und je nach Art des Aufnahmegefäßes den Inhalt mehrfach umrührt oder schüttelt. Dann bleibt die Flüssigkeit zehn Minuten stehen, worauf 0,4 g Ortiz on zugesetzt werden und wieder gut umgeschüttelt wird. Durch die sofort eintretende Sauerstoffentwicklung verschwinden Geruch und Geschmack nach Chlor vollständig und nach 1—2 Minuten ist das etwas leicht getrübe Wasser trinkfertig. Die in entsprechender Weise mit **Berliner Leitungswasser** angestellten Testversuche, wobei Typhus- und Cholerakeime verwendet wurden, ergaben vollständige Keimfreiheit, Abwesenheit von Chlorgeruch und nur eine leichte Trübung war geblieben. Bei den mit **Spreewasser** folgenden Versuchen wollte man die Wirkung der Präparate an einem an organischen Substanzen reichen Wasser bei einem Durchschnittsgehalt von 8000 Keimen in 1 ccm erproben; Resultate ebenfalls günstig, da auch hier bei völliger Keimfreiheit absolute Geschmacklosigkeit erzielt war.

**Ditthorns** Schlußsätze sind:

Das hochprozentige Chlorpräparat stellt ein feinkörniges Pulver dar, welches in Menge von 0,2 g im Liter Wasser in der Zeit von 10 Minuten stark abtötende Wirkung auf Choleravibrionen und Typhusbazillen ausübt und selbst ein sehr keimreiches Wasser zu sterilisieren vermag. Durch Zusatz von 0,4 g Ortiz on nach beendiger Desinfektion verschwindet innerhalb ein bis zwei Minuten der Chlorgeruch vollständig. Das so gewonnene bakteriologisch einwandfreie Wasser ist bei leichter Trübung ohne störenden Beigeschmack.

Hoffentlich ist diese Methode für unsere Feldtruppen noch zu verwenden.

**Rullmann** (München).

**Ruys, J. D.**, Ein betriebssicheres Verfahren zur Behandlung von Wasser für Trinkzwecke mit Hypochloriten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 79. 1915. p. 511—520.)

Anschließend an die von verschiedenen Forschern früher hierüber gemachten Versuche, führt Verf. die eigenen in 3 Reihen an und benutzt 6 aus Fäkalien gezüchtete Colistämme unter Verwendung eines elektrolytisch hergestellten Natriumhypochlorites als Desinfektionsmittel. Er arbeitete 1. mit Reinkulturen in physiologischer Kochsalzlösung; 2. Reinkulturen in stark verunreinigtem, aber sterilisiertem Kanalwasser und 3. rohem Wasser. — Hierzu sei bemerkt, daß das unter 2 verwendete Delfter Kanalwasser ganz besonders im Winter durch städtische Abwässer, Fabriken usw. sehr große Keimmengen enthält. Versuch 1 ergab einen sehr regelmäßigen Verlauf der Desinfektion und daß während der ersten 30—60 Minuten viel größere Konzentrationen erforderlich sind als zwischen 60 und 90 Minuten. Es muß also die Desinfektionszeit nicht zu kurz genommen werden und mindestens 1—1½ Stunden betragen. Bei Versuch 2 sind 2 Vorgänge zu beachten, indem zunächst die Colikeime abzutöten sind, wofür eine bestimmte Menge von Hypochlorit verbraucht wird und zweitens eine chemische Reaktion zwischen den im Wasser enthaltenen oxydierbaren Stoffen und dem NaOCl. In diesem Versuche muß infolge der Zusammensetzung des Kanalwassers auch mehr Hypochlorit zugefügt werden. Eine beigegebene Figur erläutert die Verbrauchskurve und 2 Tabellen bringen die Einzelheiten, welche

ergaben, daß die Bestimmung der Verbrauchskurven von großem Werte ist, und daß die Anfangskonzentration bei stattfindender Desinfektion einen Überschuß von  $\text{NaOCl}$  enthalten muß, welcher als „Restkonzentration“ zu bezeichnen ist. Aus dem 3. Versuche mit rohem Maaswasser geht hervor, daß eine bestimmte Restkonzentration hierbei genügt, um dieses Wasser fast vollkommen keimfrei zu machen. Stets muß nach diesem Ergebnis die Restkonzentration durch bakteriologische Versuche festgestellt werden und kann hiernach dann ohne weitere bakteriologische Kontrolle ein einwandfreies Wasser geliefert werden.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen, daß 1. bei der Behandlung von Oberflächenwasser mit Hypochloriten die Bestimmung der Restkonzentration nach einer bestimmten Zeit mittels der vorläufigen Probe notwendig ist. 2. Für eine zweckmäßige Desinfektion von Wasser mittels Hypochloriten braucht man eine kleine Restkonzentration des Desinfektionsmittels, welche abhängig ist von der Qualität des zu reinigenden Wassers, von der Einwirkungsdauer und dem Reinheitsgrad, welchen man dem zu reinigenden Wasser geben will. 3. Wenn man die Desinfektion von Oberflächenwasser mit einer chemischen Klärung verbindet, kann die Absatzperiode gleichzeitig Einwirkungszeit des Desinfektionsmittels sein.

Rullmann (München).

Schütz, Fr., Die Reinigung von Flußwasser mit Ozon. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 79. 1914. p. 359—436.)

Dem Verfasser war von der Stadtbehörde in Königsberg i. Pr. die Aufgabe gestellt, zu prüfen, ob das Pregelwasser durch Ozonbehandlung für menschlichen Gebrauch nutzbar gemacht werden könne. — Auf den ersten Seiten der vorliegenden Arbeit finden sich die meisten größeren Veröffentlichungen über Ozoneinwirkung besprochen und durch Abbildungen der Anlagen veranschaulicht. — Da Königsberg bisher Oberflächenwasserversorgung aus den Teichen des Samlandes hatte, so war die zur Verfügung stehende Wassermenge bei der Zunahme der Stadt allmählich unzureichend geworden, um so mehr, als Königsberg in seiner Eigenschaft als Festung in dieser Hinsicht sichergestellt werden mußte. Grundwasser aber findet sich erst in großer Tiefe und ist, wie vielfach in Norddeutschland, sehr salzig und daher ungenießbar. Der Fluß Pregel, welcher jetzt das Wasser spenden soll, setzt sich aus drei Quellflüssen zusammen und durchströmt Ostpreußen von O nach W; das Wasser selbst hat eine ziemlich stark gelbe Farbe und ist häufig schwer durchsichtig. Farbe und Durchsicht wurden stets festgestellt, indem durch eine Wassersäule von bestimmter Höhe ein und dieselbe Schriftprobe gelesen werden muß, wonach Aufzeichnungen gemacht werden. Die Farbe selbst wird durch eine bestimmte Wassersäule im Vergleichen mit farblosem Wasser kontrolliert, indem durch Vorsetzen farbiger Gläser dieselbe Farbenintensität mit dem Prüfungsobjekt hergestellt wird; hier sei auf Fig. 8 verwiesen. Besonders im Winter werden sehr hohe Zahlen gefunden. Die sehr starken Verunreinigungen des Pregelwassers finden außer durch Farbe und Durchsicht ihre Bestätigung in dem hohen Gehalte an organischer Substanz, welche sich bei der Bestimmung durch einen großen Verbrauch von Kaliumpermanganat anzeigt (p. 375—378). Der Härtegrad schwankt infolge der wechselnden Zuflüsse zwischen 4—9 deutschen Graden. Während das Pregelwasser durch organische Substanzen ziemlich stark verunreinigt ist, ist der Bakteriengehalt nicht so hoch (300—13 000 Keime in 1 ccm) und sind hierunter viele sporentragende

Stäbchen. Der Colititer nach Flüggés Methode wurde an den verschiedenen Entnahmestellen ermittelt. Die bakterielle Verunreinigung oberhalb der Stadt zeigte keine allzu hohen Zahlen und das Rohwasser anderer Ozonanlagen bietet eine wesentlich ungünstigere Zusammensetzung. Bei der für Königsberg zu lösenden Aufgabe mußte zunächst festgestellt werden, in welcher Weise die hier herrschenden Eigentümlichkeiten ein erfolgreiches Ozonisieren zulassen, um mit Sicherheit ein brauchbares Trinkwasser zu erzielen; das Nähere hierüber auf den p. 382—400. Bei den zu verschiedenen Zeiten erfolgenden Hauptversuchen wurde die sehr auffallende Tatsache ermittelt, daß die Agglutinationsfähigkeit der Colibazillen durch die Behandlung mit Ozon vollständig verloren ging, während die kulturellen Eigentümlichkeiten und das Verhalten zur Gramschen Färbung der Norm entsprach, wie sie der in Gebrauch gezogene Colistamm gezeigt hatte und noch zeigt. Diese Beobachtung, welche früher auch schon Altmann und Rauth gemacht hatten, führte zu der weiteren, daß die verloren gegangene Agglutinationsfähigkeit durch dauernde Umzüchtung wieder erlangt wird, wie solches auch schon für Typhus bekannt ist. Auf diese sehr wichtigen Ergebnisse sei besonders verwiesen (p. 412), ebenso auf die eingehende Zusammenfassung und das Tabellenmaterial, die zeigen, daß die Vorversuche selbst bei Anwendung größter Ozonmengen im Gegensatz zu den Hauptversuchen zu keinem günstigen Resultate führten. Dieser negative Erfolg wird außer der ungenügenden Filteranlage dem Benutzen der de Frise-Ozonisierungstürme zugeschrieben, da hier die feine Verteilung der ozonhaltigen Luft im Wasser schwer erreichbar zu sein scheint und sich das alte deutsche System der Riesletürme hierzu besser zu eignen scheint. Auch die Skrubbertürme geben bei Benutzung grobkörnigen Materials keine günstigen Resultate und Verf. kommt zu der Ansicht, daß es nicht so sehr auf die Ozonmenge als auf deren feine Verteilung ankomme. Nach in dieser Hinsicht geänderten Verwendung des de Frise-turms wurden die Ergebnisse geradezu glänzend und die angegebenen Zahlen zeigen ein Resultat, wie es auch nur annähernd von keinem anderen Wasserreinigungsverfahren erreicht wird. Es läßt sich nach allen Beobachtungen mit Bestimmtheit sagen, daß die Untersuchungen mit Pregelwasser bei gleichzeitiger Verwendung von Alaun und Ozon ausgezeichnete Resultate ergeben haben. Das gelbe, trübe Pregelwasser wird in ein klares, farbloses Trinkwasser ohne irgendeinen Geschmack, äußerst keimarm und sicher frei von pathogenen Bakterien verwandelt. Ozonisierung ohne Alaunzusatz hat ebenfalls auf die Keimminderung einen sehr günstigen Einfluß, wenn man etwas mehr Ozon nimmt, doch bleibt dann das Wasser etwas trübe. Die entstehenden Kosten dürften für Königsberg i. Pr. nicht höher sein, als in anderen Städten.

Das eingehende Studium dieser Arbeit ist sicher für Interessenten von hohem Wert.

Rullmann (München).

**Alten, Hermann von,** Hydrobiologische Studien über die Wirkung von Abwässern auf die Lebewelt unserer Gewässer. II. Mitt. (Jahresber. d. Ver. f. Naturw. zu Braunschweig. XVII. 1914. p. 1—43, m. 1 Karte u. Tab.)

Es handelt sich um die Hydrobiologie der Oker von Braunschweig

bis Didersee, der ganzen Schunter und der Nebenflüsse Wabe und Mittelriede und anderer benachbarter Gewässer. Die Ergebnisse über die letzten Monate des Jahres 1913 wurden früher schon mitgeteilt, hier liegt der Bericht über die ersten Monate 1914 vor. Ein folgender 3. Teil wird seinerzeit ein genaues Lebensbild bringen. — Es wird eine Übersicht über die in den einzelnen Teilen des Flußgebietes aufgefundenen Organismen entworfen. Überall stellen die *Diatomeen* das Hauptkontingent der Flora dar, sowohl der Arten- als auch Individuenzahl nach. Je nach der Beschaffenheit der Abwässer ändert sich die Verteilung dieser Algen, wie dies die mitgeteilten Tabellen zeigen. Organische Abwässer schädigen auf jeden Fall die mikroskopische Fauna und Flora. In der Wabe und Mittelriede verschwanden die Grünalgen unter der Einmündungsstelle und die Diatomeen wurden erheblich vermindert. Die aus Chlorkaliumfabriken entstammenden anorganischen Abwässer waren aber für die Entwicklung der Diatomeen sehr förderlich und, da diese Algen für viele Tiere die häufigste Nahrung abgeben, auch für die der Tiere. Für die Fischzucht ist dieses Moment sehr wichtig. Interessant ist die Massenentwicklung der *Vaucheria*. Kaliabwässer allein sind an diesen Wucherungen nicht schuld, da letztere auch dort auftreten, wo Kaliabwässer fehlen. Die Ursache scheint für die Tatsache der Algenanhäufung darin gelegen zu sein, daß organische Stoffe ja auch im Wasser vorhanden sind; solche Stoffe häufen sich besonders dort an, wo Stauungen auftreten.

Matouschek (Wien).

**Alten, H. von,** Hydrobiologische Studien über die Wirkung von Abwässern auf die Organismen unserer Gewässer. III. 8°. 36 pp. 1 Taf. Braunschweig (Fr. Vieweg & Sohn) 1915.

Im Flußsystemgebiete Oker-Aller (im Norden des Harzes) existiert eine starke Abraumsalz-Industrie und andererseits starker Zuckerrübenbau. Es gelangen daher viele Abwässer hier in die Flüsse. Im allgemeinen ergab das sorgfältigste Studium des Einflusses der Abwässer auf die Organismen folgendes:

1. Die Kieselalgen werden durch einen gesteigerten Chloridgehalt (KCl-, MgCl-, NaCl-Salze) gefördert. Es nehmen diese nach Gattungen, Arten und Individuen zu. Etwa 100 Arten nennt Verf. als salzliebende, darunter auch die sonst im Brackwasser vorkommende *Diploneis interrupta*. Speziell im Solgraben zu Artern gibt es eine prächtige Diatomaceenflora. Namentlich Magnesium spielt die Rolle eines Stimulans.

2. Die fäulnisfähigen organischen Stoffe bringen die Entwicklung von Saprobien mit sich, z. B. des *Sphaerotilus natans*. Sie wirken so lange hemmend auf die Normalentwicklung aller Organismen, bis die Mineralisation endlich eine Steigerung der Produktion bei einzelnen Arten in der oligosaprobien Zone eintritt. In letzterer treten die Kieselalgen sehr stark auf, doch ist die Masse von Arten der Grünalgen *Cladophora* und *Vaucheria* eine größere. An einigen Punkten (z. B. im Bett der Schunter bei Glentorf) erscheint letztere Alge in Unmasse, was auf gute Belichtung und Strömung zurückzuführen ist.

Matouschek (Wien).

**Fehlmann, Werner,** Die Wirkung der Limmatverunreinigung auf die Flora und Fauna der Limmat. (Vierteljahrsschr. d. naturf. Gesellsch. Zürich. Jg. 61. 1916. p. 11—12.)

Linksseitig fließen in den Limmat die Abwässer der Stadt Zürich und des Gaswerkes. Eine Mischung des Wassers tritt nur sehr langsam ein; beide Ufer zeigen daher eine ganz verschiedene Fauna und Flora. Oberhalb des Gaswerkes findet man im stark verschmutzten Wasser den *Tubifex*, *Limnodrillus* sowie Infusorien. Diese Zone ist polysaprob. Unterhalb des Gaswerkes folgt zuerst eine Zone ohne Lebewesen, da die Gifte dort keine zulassen. Weiter unten findet man aber *Limnodrillus*, Abwasserpilze, *Sphaerotilus* in Menge. Das andere Ufer zeigt nur geringe Verunreinigung; es treten die Mesosaprobien *Bangia atropurpurea* und *Batrachospermum moniliforme*, *Ancylus*, *Hydrurus* auf. Im stagnierenden Altwasser kann man den Übergang vom verschmutzten Wasser zum reinen innerhalb weniger Meter beobachten, da dort die „schmutzige“ *Oscillatoria* vorkommt, hier die „reine“ *Spirogyra*. Die Überschwemmungszone des linken Ufers, wo stärkste Düngung auftritt durch die schmutzigen Abwässer, ist dicht mit *Phalaris arundinacea* bestanden, die auf dem rechten sauberen Ufer ganz fehlt.

M a t o u s c h e k (Wien).

**Birge, E. G.**, The action of certain bacteria on the nitrogenous material of sewage. (Amer. Journ. Publ. Health. Vol. 5. 1915. p. 1048—1056.)

Chemical analyses were made to show the changes in content of free ammonia, organic nitrogen, nitrites and nitrates produced by *B. coli communis*, *B. cloacae*, *B. pyocyaneus*, *B. proteus vulgaris*, *B. mesentericus ruber* and *B. subtilis* when grown in sewage in pure culture and in symbiosis, under both aerobic and anaerobic conditions. *B. subtilis* showed a marked ammonifying power throughout the work under aerobic conditions. The author concludes that everything indicates that this organism may be made to play a most important role in the treatment of sewage under bacteriological control.

A. C. E v a n s (Washington).

**Klut, Hartwig**, Die Reinigung gewerblicher Abwässer. (Die Naturwissenschaften. Jahrg. 2. 1914. p. 415—419, 444—448.)

Für die Reinigung gewerblicher Abwässer stellt Verf. folgende allgemeine Grundregeln auf:

1. Für eine möglichst weitgehende Entfernung der suspendierten anorganischen und organischen Stoffe aus den Abwässern muß man Sorge tragen, bevor man an die Beseitigung der gelösten Substanzen geht.

2. Schon durch zweckentsprechende Vereinigung verschiedenartiger Abwässer läßt sich oft in den Betrieben eine ausreichende Reinigungswirkung erreichen, ohne daß Chemikalien zugesetzt oder verwendet werden.

3. Bei der Schlammfrage muß man trachten, die brauchbaren Stoffe aus dem Schlamm wiederzugewinnen.

4. Ein stoßweißes Ableiten größerer Mengen gewerblicher Abwässer ist stets zu vermeiden. Daher sind die Schmutzwässer in gleichmäßigem Strome den Kanälen zuzuleiten.

5. Die Temperatur der Abwässer darf 37,5° C nicht übersteigen; sie dürfen weder alkalisch noch sauer sein, weil sonst Rohrzerfressungen vorkommen.

6. Brennbare und explosible Stoffe müssen unbedingt ferngehalten werden. In solchen Fällen und auch sonst trachte man, daß der Abfluß gleichmäßig auf die 12 Tagesstunden verteilt wird.

7. Auf jeden Fall trachte man, die gewerblichen Abwässer mit den städtischen zu mischen. Es wird auch möglich sein, saure Abwässer mit alkalischen zu neutralisieren. Ein besonderer Maßstab für die Kanalgebühren gewerblicher Anlagen ist in vielen Städten zugrunde gelegt. — Die wichtigeren gewerblichen Abwässer werden kurz besprochen (21 Beispiele aus allen Zweigen der Industrie).  
M a t o u s c h e k (Wien).

**Rohland, P., Die Klärung, Reinigung und Desinfektion der städtischen und Fabrikabwässer.** (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 80. 1905. p. 350 ff.)

Zur jetzigen Kriegszeit macht Verf. darauf aufmerksam, daß erfahrungsgemäß die E m s c h e r - und K r e m e r b r u n n e n zur städtischen Abwässerklärung nicht ausreichen, da die feineren und kolloidgelösten Bestandteile in den Vorfluter übergehen und nur die gröberen Bestandteile sich absetzen. Da aber die erstgenannten zur Seuchenverbreitung beitragen können, so muß noch ein weiteres Verfahren hinzukommen, welches aber auch die pathogenen Keime noch nicht zerstört; hierfür sind besondere Zusätze erforderlich. Kommen Flüsse mit nicht vollständig geklärten landwirtschaftlich oder organisch verunreinigten Fabrikabwässern aus Rohrzucker-, Preßhefe- oder Bierbetrieben im Vorfluter zusammen, dann bildet sich das für die zahlreichen Mikroorganismen günstige Nährsubstrat. Der biologische Prozeß macht sich sehr bald durch üblen Geruch bemerkbar und bei dem raschen Wachstum der Bakterien können bei Gegenwart von Seuchenerregern große Gefahren durch Verbreitung der Ansteckungsmöglichkeit herbeigeführt werden. Auch die Vermehrung der sonst unschädlichen Pilze aus der S p h a e r o t i l u s - und L e p t o m i t u s g r u p p e geben zu Fäulnisprozessen Veranlassung. Deshalb wünscht R u h l a n d , daß gerade jetzt zur Kriegszeit Flüsse und Bäche rein gehalten werden; auch betont er, daß das richtige Material für Kanalisationen von größter Wichtigkeit sei, da Eisenbetonrohre durch saure Abwässer durch Lösen des im Zement enthaltenen Calciumcarbonates zerstört werden können. Meistens aber wird die Schädigung infolge der großen Verdünnung nicht eintreten; an dieser Stelle werden dann einzelne eingetretene derartige Schädigungen zur Warnung genau angeführt. — Besondere Aufmerksamkeit wird den Abwässern der Lederfabriken gewidmet, da solche häufig Milzbrandbazillen und dessen Sporen enthalten, wobei sich herausstellte, daß diese sehr empfindlich gegen verdünnte Lösungen von Kaliumpermanganat, Kaliumdichromat, Bleizucker, Formalin, Karbol und besonders Chlorkalk sind. Sodann werden die eingehenden Studien von R u h l a n d - H a l l e bezüglich der Chlorkalklösungen auf Milzbrandsporen angeführt, wobei der jeweilige Chlorgehalt titrimetrisch bestimmt und Milzbrandreinkulturen, die viele keimkräftige Sporen enthielten, zur Prüfung herangezogen wurden. Diese Versuche ergaben, daß bei einem Gehalte von 0,5 g Chlor in einem Liter Chlorkalklösung innerhalb 12 Sekunden eine völlige Abtötung der Milzbrandsporen erreicht wird; beträgt der Chlorgehalt 0,3 Proz., so sind dann nur Minuten dazu erforderlich. Um aber kein freies Chlor in die Abwässer gelangen zu lassen, soll man versuchen, mit einer 0,2 Proz. Lösung auszukommen. Auch wird darauf aufmerksam gemacht, daß außer durch Felle durch Benutzung von nicht sterilisiertem ausländischen Knochen-

mehl gleichfalls Milzbrandsporen in den Vorfluter gelangen können. Den Schluß bildet die theoretische Begründung der Einwirkung von Aluminium-, Calcium- und Eisensalzen. Rullmann (München).

**Ilzhöfer, H.**, Die Verunreinigung der Isar durch die Münchener Kanalwässer. (Arch. f. Hyg. Bd. 11. 1914. p. 149—199.)

Die Ende der 80er Jahre vorigen Jahrhunderts von Praußnitz ausgeführte Untersuchung „über den Einfluß der Münch. Kanalisation auf die Isar“ fiel noch in die Zeit, wo die Kanalisation als solche noch gar nicht beendet war, und vor allen Dingen die Einleitung der Fäkalien in die Kanäle nur unerlaubter Weise geschah.

Die damals erhaltenen Resultate veranlaßten Pettenkofer, sich energisch für die Abschwemmung sämtlicher Unratstoffe einschließlich der Fäkalien in der Isar zu verwenden. Ende 1892 wurde solches behördlich gestattet. Seit der Ausführung der Praußnitzschen Untersuchungen haben sich bis zu der jetzigen Zeit bezüglich der Einwohnerzahl, Ausdehnung der Kanalisation, Einmündung der Fäkalien in die Kanäle u. a. die Verhältnisse sehr geändert, so daß das Erscheinen der im Hygien. Universitätsinstitut München ausgeführten Arbeit sehr freudig zu begrüßen ist, um so mehr als auch an dieser Stelle seit Einführung der Schwemmkanalisation monatlich vorgenommene chemisch-bakteriologische Untersuchungen zum Vergleiche mit der früher ermittelten Beschaffenheit des Isarwassers stattfinden. — Leider ist an dieser Stelle ein genaueres Eingehen auf die äußerst interessante Arbeit nicht zulässig, da hier nur die bakteriologisch wichtigen Ergebnisse besprochen werden können, aber einzelne kurze Mitteilungen aus den anderen Gebieten sind unerlässlich; so hatte München Anfang 1890 331 000 Einwohner und 1911 deren 604 000, so daß wir jetzt 1914 wohl fast von einer Verdoppelung der Einwohnerzahl seit 1890 sprechen können. Das Gebiet der Münchener Wasserversorgung liegt im Mangfalltale und durchschnittlich 100 m über dem Niveau des Stadtinnern; diese Leitung stellt sehr große Wassermengen zur Verfügung und 1911 wurden 137 250 Kubikmeter durchschnittlich im Tage verbraucht. Daher ist das Mangfallwasser in chemisch-bakteriologischer Beziehung als ausgezeichnet anzusehen, betrug doch beispielsweise der mittlere Keimgehalt des Wassers aus dem Stadtrohrnetz

in einem Kubikzentimeter:			
1909	1910	1911	1912
12	14	10	9 Keime.

Zur Spülung der Kanäle aber stehen, unterstützt durch sehr praktische Anlagen, große Mengen von Isarwasser zur Verfügung und die vielen starken Springbrunnen Münchens tragen gleichfalls in hervorragender Weise hierzu bei. Bei Regenwetter erhöhen sich natürlich die Wassermengen für Kanal-spülung noch wesentlich, immerhin beträgt aber bei Trockenwetterabfluß die durchschnittliche Abwassermenge 200 Liter pro Kopf und Tag der Bevölkerung; mehr als in irgendeiner anderen Großstadt Deutschlands. Auf die sehr eingehenden chemischen Untersuchungen des Isarwassers nach Einmündung der Kanäle sei besonders verwiesen (S. 158—174); ebenso wie solche regelmäßig monatlich erfolgen, geschieht auch die Bestimmung der Keimzahl indem in einem ganz in der Nähe des Flusses liegenden Hause je zweimal 0,5 und ebenso 0,2 ccm des Flußwassers in Petrischalen gebracht und mit verflüssigter Fleischwassergelatine gemischt werden. Die Kolonienzählung

erfolgt nach 48 Stunden auf der W o l f f h ü g e l s c h e n Zählplatte. Hier muß hervorgehoben werden, daß die Isar nach Aufnahme der Münchener Sielwässer keine weiteren Verunreinigungen und keine Nebenflüsse empfängt, daß aber ganz besonders durch die zwischen Freising und Landshut einmündende sehr wasserreiche A m p e r das Isarwasser noch weiter stark verdünnt wird. — Die Seiten 177—184 geben für chemische Wasseruntersuchungen sehr wichtige Fingerzeige. — Aus dem Abschnitte über Bakterien ist hervorzuheben, daß ebenso wie die Menge der suspendierten und der gelösten organischen Stoffe bei hohen Wasserständen auch die Keimzahl steigt, indem hierdurch aus den umgebenden gedüngten keimreichen Bodenschichten zahlreiche Bakterien abgeschwemmt werden. Es sind aber nur die bei mittleren Wasserständen sich ergebenden Werte in beider Hinsicht als Einwirkung des Einflusses auf das Isarwasser nach Vermischung mit dem Münchener Sielwasser anzusehen. Besondere Aufmerksamkeit verwendete Verf. auf die zeitweise Bestimmung des Colititers des Isarwassers, sowohl vor dem Eintritt in das Münchener Stadtgebiet als später nach Aufnahme der Kanalwässer. — Die biologischen Untersuchungsergebnisse haben in zweifelloser Weise ergeben, daß das Isarwasser durch die Beimischung der Münchener Kanalwässer auf eine weite Strecke starke Veränderung erlitten hat und speziell die suspendierten Stoffe als auch die gelösten organischen Verbindungen und besonders Bakterien noch weit unterhalb (Freising) in größerer Menge vorhanden sind, als oberhalb Münchens. Bei der Beobachtung über die Selbstreinigung der Isar ist aber die scheinbare und die eigentliche genau zu trennen, da erstere infolge der Verdünnung und Sedimentation im Verlaufe des Flusses durch Abnahme der verunreinigenden Stoffe herbeigeführt wird und die zweite auf der durch biologische Prozesse veranlaßten Verminderung an gelösten und abgelagerten organischen Stoffen basiert. Diese letztere verläuft aber recht langsam und ist dem Umfange nach sehr beschränkt, doch läßt sich solches bei der rasch fließenden und kalten Isar, welche die ganze in Frage kommende Strecke in ca. 5½ Stunden durchläuft, kaum anders erwarten. — Alle Zählungen ergaben ein rasches Verschwinden der Keime aus dem fließenden Wasser, aber ihre Zahl ist am Ende der Beobachtungsstelle — in Landshut — und trotz der erfolgten Verdünnung im Mittel immer noch 2½ mal so groß als bei Thalkirchen, also vor dem Eintritt in die Stadt München. Für diese Abnahme sind verschiedene Gründe maßgebend, da einesteils bei der Sedimentierung durch das Niedersenken der Schwebstoffe schon große Mengen frei schwebender Bakterien mechanisch mitgerissen werden, aber auch andererseits die Hauptmenge der Bakterien in den suspendierten Teilchen im Sielwasser festsitzt und beim Herabsinken der Schwebstoffe ein Absinken, wenn auch kein Absterben der Bakterien statthat. Ferner geht durch die Verdünnung der Sielwässer der Nährwert für die Bakterien wesentlich zurück, so daß die entwicklungsfähigen Bakterien im Verhältnis der Verdünnung noch mehr abnehmen. Zweifellos spielt aber auch die Belichtung beim Zurückgehen der Keimzahl eine große Rolle. Nach I l z h ö f e r s Angaben wurde auf Grund der Plattenzählmethode gegenüber dem Anfangsgehalte ein Rückgang bei Landshut um 82 Proz. ermittelt; ähnliche Resultate waren früher von anderen Forschern festgestellt worden. — Bezüglich der Folgen der Isarverunreinigung muß gesagt werden, daß durch die Einleitung der ungereinigten Kanalwässer wohl die Möglichkeit der Infektiosität gegeben ist, da aber in München bei infektiösen Erkrankungen stets eine obligatorische Desinfektion angeordnet ist und wohl auch in den meisten



Fällen zur Ausführung kommt, so dürften wohl selten durch solche Veranlassung ansteckungsfähige Keime vorkommen, trotzdem aber können pathogene Keime auftreten. Immerhin ist die Gefährdung der Bevölkerung im Unterlaufe der Isar durch Keime aus dem Fluß sehr gering, da bisher kein derartiger Fall auf solche Veranlassung mit Sicherheit zurückzuführen ist. Am meisten ist durch die Flußverunreinigung eine Fäulnis im fließenden Wasser selbst, die Schlammablagerung und die Schlammfäulnis zu befürchten. Aber auch in dem außergewöhnlich trockenen und sehr heißen Sommer 1911 sind keinerlei unangenehme Erscheinungen zutage getreten. Abzuwarten bleibt wie die Sache sich bei weiterer Bevölkerungszunahme Münchens (etwa 1 Million) gestalten wird. Betrachtungen über das durch herumschwimmende Papierfetzen, Korke, Fruchtschalenreste usw. bedingte häßliche Aussehen des Wassers bleiben hier unerledigt. Es muß noch hervorgehoben werden, daß trotz der bisherigen ständigen Bevölkerungszunahme Münchens sich die Zusammensetzung des Isarwassers nach Einmündung der Kanäle verhältnismäßig wenig geändert hat. Interessenten seien auf die Tabellen VI, VII und VIII verwiesen.

Aus den Schlußbetrachtungen ergibt sich, daß, da bis jetzt erhebliche gesundheitliche und wirtschaftliche Nachteile durch Einleitung der Kanalwässer in die Isar nicht beobachtet wurden (die Fischereigerechtsame hat die Stadt München angekauft), vorläufig wohl nur an die Beseitigung der andeuteten, das Auge beleidigenden Schwebestoffe gedacht werden muß. — Jedenfalls hat das Hygienische Universitätsinstitut München und der Verf. durch Veröffentlichung der Resultate sich im Interesse der Allgemeinheit ein großes Verdienst erworben.

R u l l m a n n (München).

**Dunbar, W. P., Neue Methoden zur Abwasserreinigung.**  
Die Abwasserbehandlung der Stadt Straßburg  
i. E. (Gesundheitsingenieur. 1916. No. 6.)

Von den neuerdings in Betracht kommenden Abwasserreinigungsverfahren sind hauptsächlich zwei hervorzuheben, von denen das erste mit aktiviertem Schlamm in Amerika erfolgreich angewendet wird und das zweite welches zurzeit großes Interesse beansprucht, das Hofersche Fischteichverfahren ist. — In mehreren Städten, so in Berlin, Pankow, Schöneberg, Dortmund, München u. a. O., waren schon vorher die Abflüsse aus Rieselfeldern zur Nachreinigung in Teichen angesammelt und mit Fischen besetzt worden. Die hierbei gemachten günstigen Erfahrungen veranlaßten zu deren praktischen Verwertung. Auch hinter künstlichen biologischen Körpern, insbesondere Tropfkörpern, hat man Fischteiche angelegt, um zunächst zu ermitteln, ob hierin Fische leben können. — Der bekannte Münchner Gelehrte, Prof. Hofer schlug dann vor, die Abwässer nicht vorher besonders zu reinigen, sondern nur von einem Teile ihrer suspendierten Stoffe zu befreien, die durchgreifende Reinigung dagegen in Fischteichen bewirken zu lassen. Unter Zugrundelegen bestimmter Größen- und Zahlenverhältnisse beruht Hofers Verfahren auf der schon lange bewiesenen natürlichen Selbstreinigungskraft des Wassers, welches die zugeführten gelösten und ungelösten organischen Stoffe, soweit sie nicht gasförmig entweichen oder mineralisiert werden, von den niederen pflanzlichen und tierischen Organismen aufgenommen, verarbeitet und den eingesetzten Fischen zur Nahrung dienen, um so in Fischfleisch umgewandelt zu werden. Hierbei wird dann tatsächlich leblose organische Materie in lebende Organismen umgewandelt. Nicht der rasch fließende Gebirgsbach ist hierzu geeignet,

sondern vielmehr das sich sehr langsam bewegende Wasser der Teiche. Natürlich müssen die Abwässer bis mindestens 50 Proz. von den suspendierten Stoffen befreit sein und unzersetzt in die Fischteiche gelangen, wie es auch hier nicht zu Fäulnisprozessen kommen darf, so daß richtig geleitete Fischteiche keine üblen Gerüche entwickeln dürfen. Karpfen sind zur Besetzung am meisten zu empfehlen, aber auch Schleien, Hechte und Regenbogenforellen kommen in Frage. Gemachte Zahlenangaben beweisen eine vorzügliche Rentabilität. — Der reichen Entwicklung von Schwimmpflanzen, besonders Lemnaarten, kann, um die Durchlichtung und Durchlüftung der Teiche nicht zu hindern, durch Einsatz von Enten vorgebeugt werden, welche auch wieder durch Verzehren der Schlammwürmer und der pflanzlichen Organismen reichliches Futter erhalten und fett geworden zur weiteren Rentabilität beitragen. Die für Interessenten sehr wichtigen Einzelarbeiten müssen im Originale eingesehen werden. — Das Hofersche Verfahren ist schon an verschiedenen Orten eingeführt worden und dürften die gründlichsten Studien hierüber in Straßburg i. E. gemacht worden sein, woselbst es 1911 zur Ausführung gelangte. Die Fischteiche unterstehen hier einer ständigen chemisch-biologischen und bakteriologischen Kontrolle und sei auf den beigegeführten Bericht der amtlichen Stelle verwiesen. — Die eingeführte Änderung des städtischen Entwässerungssystems wird durch die auf p. 71, 73 und 75 beigegebenen Pläne erörtert. Die eingebauten Grobrechenanlagen sowie Geigersche Siebschaufräder haben ausgezeichnete Erfolge gezeitigt und das so gewonnene Rechengut wird an Landwirte als Düngemittel verkauft. — Während der ganzen Versuchsdauer wurden die entsprechenden wissenschaftlichen Prüfungen vorgenommen; die Abnahme an Bakterien betrug im Sommer 1911 85 Proz. und 1912 91,5 Proz., während der Stickstoffgehalt im Sommer 1911 eine Abnahme von 78 Proz., im Februar 1912 um 50 Proz. im Vergleiche zum Rohwasser erfuhr; ein Beweis, daß der Reinigungsprozeß den höchsten Anforderungen entspricht.

Nach allen bisherigen Erfahrungen ist man mit dem Hoferschen Verfahren sehr zufrieden, da nicht allein die höchsten hygienischen Aufgaben vollkommen hierdurch gelöst werden, sondern auch finanziell ein wirtschaftlicher Nutzen erbracht wird. Eine wesentliche Erweiterung der Teichanlagen ist für Straßburg in Aussicht genommen. Rullmann (München).

**Messerschmidt, Th.,** Über die Wirkungsweise von biologischen Abwässerreinigungskörpern. II. u. III. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 80. 1915. p. 447 u. ff.)

Über den ersten Teil dieser Untersuchung (Bd. 78. 1914. H. 3) ist seinerzeit an dieser Stelle berichtet worden. Es war gezeigt worden, daß neben den biologischen Prozessen physikalisch-chemischen Vorgängen eine intensive Wirkung auf die Umsetzung des organischen Stickstoffmoleküls zur anorganischen Salpetersäure zukommt. Im vorliegenden II. und III. Abschnitt wird festgestellt, wie weit der Abbau des Eiweißes in diesen biologischen Laboratoriumskörpern stattfindet, und dabei auf in der Praxis ausgeführte Versuche von Rhein und Tashiro verwiesen. Das Ergebnis der Versuche des Verf. wurde in Übermittlung mit denjenigen von Rhein dahin zusammengefaßt, daß bei einem völlig gereinigten Abwasser die Eiweißkörper so weit zerstört sind, daß sie ihren antigenen Charakter verloren haben. Ein Abwasser, das noch faulfähig ist, auch dann, wenn die Eiweißkochprobe nur noch undeutlich positiv ist, hat noch die Fähigkeit, Meerschweinchen zu

sensibilisieren, welches nicht auffallen kann, da ja die Anaphylaxie noch schärfer als die Kochprobe auf Eiweiß reagiert. Hierbei war bei Prüfung der Faulfähigkeit des Ablaufes festgestellt worden, daß das gereinigte Abwasser frei von faulfähigen Resten der Eiweißkörperzerstörung war. Eine Folge dieser Beobachtung war, das Verhalten der Körper gegen im Zulaufe vorhandene Bakterien zu prüfen, ob solche im eingearbeiteten Körper vernichtet und unter welchen Bedingungen eine Abtötung oder Keimverminderung stattfindet. Eingehend war Dunbars Arbeit über die Einwirkung biologischer Körper auf Bakterien erörtert und in tabellarischer Form werden die diesbezüglichen Ergebnisse mit verschiedenen Bakterienarten (p. 451—455) niedergelegt.

Bei den geschilderten Versuchen ist hervorzuheben, daß es Laboratoriumsversuche waren und daher zu bedenken ist, ob die erzielten Resultate auch auf Ergebnisse in der Praxis zu übertragen sind. Jedenfalls aber sind die Beobachtungen über die Keimverminderung so auffallend, daß eine Nachprüfung in der Praxis sehr lohnend sein dürfte. Bei Zusammenfassung der Ergebnisse aus dem II. Teile zeigt sich auf die Frage des antigenen Charakters von eiweißhaltigen Abwässern und ihren gereinigten Abläufen, daß ein völlig gereinigtes Abwasser keinen antigenen Charakter mehr trägt. Im III. Teile wurden Versuche besprochen, um infektiionskräftige und keimreiche Abwässer durch den biologischen Prozeß im Tropfkörper ganz erheblich keimärmer zu machen. Eine völlige Sterilisierung gelang jedoch auch unter optimalen Bedingungen nicht.

Rullmann (München).

**Repassy, Mikl.,** Reinigung der Abwässer durch Fischteiche. (Vizügyi közlem. 1914. p. 185—196.)

Unter Berücksichtigung der B. Hoferschen Teichdüngungsversuche schildert Verf. die Unterschiede zwischen den Fischereiverhältnissen Deutschlands und denen Ungarns. Wenn auch in Ungarn die Teichanlagen modern eingerichtet sind, daher auch größeren Ertrag abgeben, als in Deutschland, so könnte doch die Hofersche Methode Eingang finden. Zu berücksichtigen sind aber folgende Punkte: Die Hofersche Methode erfordert viel frisches Wasser, das in den ungarischen Teichgebieten fehlt. Die Verteilung des Abwassers muß in den Teichen gleichmäßig erfolgen; dies ist aber bei der Größe der Teiche Ungarns (50—100 ha) nicht durchführbar. Von einer Teilung der Teiche in Abteilungen kann keine Rede sein.

Matouschek (Wien).

**Alten, Hermann von,** Hydrobiologische Studien über Flüsse mit Kaliabwässern. (Zeitschr. f. Fischerei. Bd. I. (N. Folge). 1914. p. 25—45.)

Hofer leitet aus seinen verschiedenen Arbeiten den Satz ab: Belastungen fließender Gewässer mit Abwässern der Chlorkalium-Fabrikation, durch welche die Härte bis 50° und der Gehalt an  $MgCl_2$  bis 0,047 Proz. ansteigt, sind für die Flora und Fauna nicht schädlich. Vogel meint auch: Jeder nachteilige Einfluß der Erdlaugen auf die Selbstreinigungskraft eines Gewässers erscheint, angesichts der in der Praxis in Betracht kommenden Mengen, völlig ausgeschlossen. Verf. hat nun Naturstudien an den Wasserläufen Aller, Oker, Schunter bei Braunschweig gemacht, und ergänzt die Arbeiten Hofers aus den Jahren 1903—1904. Die Tabellen ergaben 114 Arten und Varietäten von Algen (100 darunter den Diatomeen angehörend). Letztere bilden quantitativ den Hauptbestandteil der Mikroflora. Die Haupt-

40\*

nahrung der Fische (*Gammarus*, *Asellus* etc.) war in der Schunter und ihren Zuflüssen sehr zahlreich vertreten, mit Ausnahme der Strecken, die durch organische Abwässer von Zuckerfabriken verunreinigt waren. Organische Abwässer sind da also schädlich. Die Fische zogen von der Schunter in die „Wabe“; sind solche Auswege nicht vorhanden, so werden sie (wie in der Mittelriede) teils aus Nahrungsmangel, teils durch Vergiftung vernichtet, was bei den sogen. „Fischsterben“ in jedem Herbst zu beobachten ist, sobald die Zuckerfabriken ihre Abwässer in die Flüsse leiten.

Matouschek (Wien).

**Russell, E. J., and Appleyard, A.,** The atmosphere of the soil: its composition and the causes of variation. (Journ. Agric. Scienc. Vol. 7. 1915. p. 1—48.)

In Übereinstimmung mit älteren Autoren wurde gefunden, daß die frei im Boden zirkulierende Luft durchschnittlich 0,25 Proz. Kohlensäure und 20,6 Proz. Sauerstoff enthält, daß aber ihre Zusammensetzung weiten Schwankungen unterliegen kann. An Wasserstoff und Methan wurde nicht mehr gefunden als in der atmosphärischen Luft. Sehr interessant und wichtig ist die neu entdeckte Tatsache, daß die im Boden-Wasser und in den Erd-Kolloiden eingeschlossene Luft fast nur Kohlensäure und Stickstoff enthält, dagegen so gut wie gar keinen freien Sauerstoff.

Die wachsenden Pflanzen sind nur von geringem Einfluß auf den Kohlensäure-Gehalt der Bodenluft; dieser ist vorwiegend von der Mikroben-Tätigkeit abhängig. Dementsprechend waren die Maxima im Frühjahr und im Herbst zu registrieren, und es übte während der kälteren Jahreszeit die Temperatur, während der wärmeren die Erdfeuchtigkeit einen bestimmenden Einfluß aus. Die Jahreskurven für die Kohlensäure-Produktion und für die Bakterien-Zahlen stimmten indessen nicht gut überein. Stalldünger-Zufuhr erhöhte die Kohlensäure-Produktion sehr, desgleichen wurde sie durch Regen erheblich gefördert, weil dieser nicht nur Feuchtigkeit, sondern auch ansehnliche Sauerstoff-Mengen in den Boden bringt.

Die benutzten Untersuchungsmethoden und Apparate sind ausführlich beschrieben und abgebildet.

Löhnis (Washington).

**Shive, J. W., and Livingston, B. E.,** The relation of atmospheric evaporating power to soil moisture content at permanent wilting in plants. (The Plant World. Vol. 17. 1914. p. 81—121.)

In ihrer Arbeit über den relativen Welkungskoeffizienten verschiedener Pflanzen („Flora“ 1913) haben Briggs und Shantz die Ansicht ausgesprochen, das Maß der Bodenfeuchtigkeit, bei dem eine Pflanze auf die Dauer welk wird, soll von der Luftfeuchtigkeit und den übrigen für die Transpiration maßgebenden Außenbedingungen unabhängig sein. Dieses Ergebnis ist jedenfalls auffallend. Shive und Livingston zeigen in vorliegender Arbeit, daß bei ausgiebiger Transpiration das Welken bei geringerer Erschöpfung des Bodens erfolgt, als wenn die Pflanze wenig Wasser verliert. Sie variierten die atmosphärischen Faktoren, die für die Wasserverdunstungsgröße entscheidend sind, in solcher Art, daß geeichte Evaporimeter in 1 Stunde 0,1—6 ccm Wasser verloren. Je höher die Verdunstung ist, desto höher fällt der Wassergehalt des Bodens zu der Zeit aus, in der die Pflanze welkt, um sich nicht wieder zu erholen. Wird der Wassergehalt des Bodens zur Zeit des Welkens in Prozentsen des Trockengewichts ausgedrückt (was

Briggs und Shantz „Welkungskoeffizient“ nennen), so sinkt dieser, wenn die Verdunstung 2 cm stündlich beträgt, mit abnehmender Evaporation immer rascher, darüber steigt er aber mit zunehmender Verdunstung nur noch langsam. Matouschek (Wien).

Harrison, W. H., and Aiyer, P. A. S., The gases of swamp rice soils. II. Their utilization for the aeration of the roots of the crop. (Mem. Dept. Agric. India. Chem. Ser. Vol. 4. 1914. p. 1—17, w. 1 plat.)

Die Bodengase in den Reisfeldern sind reich an Methan und an Stickstoff, während Kohlensäure und Wasserstoff stark zurücktreten. Die Erdoberfläche überzieht sich mit einer mehr oder minder dicken Organismenhaut, in der zunächst Methan- und Wasserstoff-oxydierende Bakterien diese dem Boden entstammenden Gase zu Kohlensäure und Wasser umsetzen. Die Kohlensäurebildung begünstigt ein lebhaftes Algenwachstum, das seinerseits durch eine kräftige Sauerstoffabspaltung eine für die Atmung der Reiswurzeln sehr vorteilhafte Reinigung der Bodenluft bewirkt. Gründüngung übt im Reisfeld dadurch einen günstigen indirekten Einfluß aus, daß sie die Methanbildung und demzufolge durch Anregung jener metabiontischen Prozesse auch die Sauerstoffversorgung des Bodens wesentlich verstärkt.

L ö h n i s (Washington).

Klein, M. A., Studies in the drying of soils. (Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 7. 1915. p. 49—77.)

Es wurde erneut festgestellt, daß vorausgehendes längeres Trocknen der Erde, speziell, wenn es sich um einen schweren Boden mit nicht zu geringem Humusgehalte handelt, die Entwicklung der weiterhin angebauten Pflanzen sehr vorteilhaft beeinflußt. Außerdem wurde genauer studiert, in welcher Weise wiederholtes Trocknen und Anfeuchten der Erde auf die darin verlaufende Kohlensäure und Nitrat-Bildung einwirkt. Die Kohlensäurebildung wurde durch dreimaliges Trocknen der Erde nicht mehr erhöht als durch einmaliges Trocknen; gründliche Durchnässung des Bodens setzte sie bald wieder auf das ursprüngliche Niveau herab. Dauernd trocken gehaltener Boden zeigte nur in der ersten Zeit eine schwache Kohlensäureentwicklung, später hörte sie vollkommen auf. Die durch das Trocknen ebenfalls hervorgerufene Steigerung der Nitrifikation machte (im Gegensatz zur Kohlensäureproduktion) auch nach der zweiten Trocknung noch sehr deutliche Fortschritte, und selbst die dritte Behandlung erwies sich noch ein wenig förderlich.

L ö h n i s (Washington).

Buddin, W., Note on the increased nitrate content of a soil subjected to a temporary drying in the laboratory. (Journ. Agric. Scienc. Vol. 6. 1914. p. 452—455.)

Unmittelbar nach dem Ausbreiten und Trocknen der Erde zeigte deren Nitratgehalt keine merkliche Erhöhung. Dagegen nahm dieser stark zu, wenn die Erde wieder angefeuchtet wurde. Die Gesamtzahl der Bakterien ließ keine erheblichen Differenzen erkennen, und es wird gefolgert, daß durch das Trocknen die stickstoffhaltigen Bodenbestandteile in einen leichter nitrifizierbaren Zustand übergeführt werden. L ö h n i s (Washington).

**Lipman, C. B., Antagonism between anions as related to nitrogen transformation in soils.** (The Plant World. Vol. 17. 1914. p. 295—305.)

Es wurde früher nachgewiesen, daß die Kationen gelöster Salze auf die Ammonisationsgeschwindigkeit gewisser Organismen giftig und antagonistisch wirken. Wie verhalten sich nun die Anionen? Verf. studierte die Wirkung der in den alkalischen Böden vorkommenden Salze  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  auf die Ammonisation und Nitrifikation der Bodenorganismen. Man verfuhr so:

Proben von 100 g leichter Erde, die ein gutes Ammonisations- und Nitrifikationsvermögen besaß, wurden in Gläser gebracht und 2 kg Blutmehl und die diversen Salze hinzugegeben. Nach Beifügung von destilliertem Wasser wurde das Ganze gemischt. Jedes Glas zugedeckt mit dem Deckel einer Petrischale. Aufbewahrung bei 28—30° C 1 Woche lang. Mit Magnesia wurde destilliert und das Ammoniak mit einer Normalsäure titriert. Das Zusetzen der Salze erfolgte nach den vom Verf. im Centralbl. f. Bakt. Bd. 32, 33, 35 notierten Weise. Es besteht zwischen den oben genannten Salzen ein starker Antagonismus, ja sogar zwischen zwei giftigen Salzen ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). — Bei den Nitrifikationsversuchen wurde ähnlich verfahren, aber nur 2 g Blutmehl wurde beigelegt. Es zeigte sich:  $\text{NaCl}$  in 0,2 Proz. setzte die Nitrifikation auf weniger als die Hälfte derjenigen eines Normalbodens herab. Gab man außer  $\text{NaCl}$  noch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  in der zwischen 0,05—0,2 Proz. schwankenden Menge dazu, so steigerte sich die Nitrifikationsgeschwindigkeit gegenüber der eines normalen Bodens, obschon die im Boden enthaltene gesamte Alkalimenge verdoppelt war. Zugabe von 0,05 Proz.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  setzte die Nitrifikation herab; gab man aber schwankende Mengen von  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (bis zur Konzentration von 0,5 Proz.) hinzu, so wurde sie stärker als die normale. 2 Proz.  $\text{NaCl}$  setzte allein schon die normale Nitrifikationswirkung des Bodens um mehr als 50 Proz. herab, 0,05 Proz.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sogar um 75 Proz. Gibt man diese beiden Salze aber zusammen, so steigert sich die Nitrifikationstätigkeit um mehr als 25 Proz. gegenüber der normalen Tätigkeit. Das Gleiche gilt für größere Mengen von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  als die sind, welche an sich schon die Nitrifikation um 75 Proz. herabsetzen. Diese können durchaus unschädlich gemacht werden, oder aber eine Reizwirkung auf die Nitrifikation ausüben, wenn man 0,2 Proz.  $\text{NaCl}$  hinzufügt. — All die Versuchsreihen zeigen die allgemeine Tragweite des Loebschen Prinzips auf die physiologisch ausgeglichenen Lösungen; die Anionen sind ebenso wie die Kationen wirksam. Das Prinzip des Antagonismus der Salze wirkt bei der Lösung des Problems der Verbesserung alkalischer Böden mit. **Matouschek** (Wien).

**Allen, E. R., and Bonazzi, A., On nitrification. Preliminary observations.** (Ohio Agric. Experim. Stat. Techn. Bull. 7. 1915. p. 1—42.)

Verff. berichten über einige Nitrifikationsversuche in Erde, die zu sehr wechselnden Resultaten führten. Die vor der Verwendung (unzweckmäßigerweise) lufttrocken gemachte Erde wurde in Flaschen aufbewahrt, die mit angefeuchteter Watte verschlossen wurden. In einigen Fällen ergaben sich gewisse Parallelen zur Ergiebigkeit der betreffenden Flurstücke, in anderen dagegen nicht. Verff. sind der Ansicht, daß vor allem die Methodik weiterer Durcharbeitung bedarf. Es werden deshalb weiterhin einige vergleichende Versuche beschrieben, die in verschiedenen Substraten angestellt wurden.

Dabei stellte sich u. a. heraus, daß ein Gemisch von Sand und Humus besser wirkte als Erde; Tierkohle konnte den Erdhumus nicht ersetzen; am günstigsten aber erwies sich geglühter Boden, wenn dieser mit der zu prüfenden Erde geimpft wurde. Hinsichtlich der Lösungsversuche wird im Text gesagt, daß Erdextrakt in diesem Falle nicht bessere Resultate geliefert habe als Omelianski-Lösung; dem entsprechen indessen nicht die in der zugehörigen Tabelle mitgeteilten Ergebnisse. Die Nitrifikation verlief danach im Erdextrakt erheblich rascher. L ö h n i s (Washington).

**Lipman, C. B.,** The nitrogen problem in acid soils. (Proceed. Nat. Acad. Scienc. Washington D. C. Vol. 1. 1915. p. 477—480.)

Die typisch aciden Böden Kaliforniens, die weniger als 375 mm Niederschläge erhalten, sind sämtlich mehr oder minder stickstoffarm; z. T. enthalten sie nur 0,01—0,02 Proz. Gesamtstickstoff. Mit dem geringen Vorrat an leicht zersetzlicher organischer Substanz geht ein auffallend schwaches Nitrifikationsvermögen Hand in Hand. Relativ gut werden noch nitrifiziert: Ammonsulfat, gedämpftes Knochenmehl, sowie Baumwollsaatmehl, dagegen nur sehr langsam oder überhaupt nicht: Blutmehl und stickstoffreicher Klärbeckenschlamm. Die Ammonifikation verläuft auch in diesen Fällen rasch; die hierbei entstehenden Mengen an Ammonkarbonat und an freiem Ammoniak erweisen sich aber, speziell mit Rücksicht auf das an sich schon schwache Nitrifikationsvermögen dieser Erden, als sehr schädlich. Mangel an aufnehmbarem Stickstoff ist die Ursache vieler Wachstumsstörungen der in den betreffenden Gebieten angebauten Kulturgewächse. Stärkere Anwendung organischer Düngung, speziell von Gründüngung, sowie möglichste Konservierung der Erdfeuchtigkeit (durch dauerndes Bedeckthalten des Bodens) sind von größter Bedeutung. L ö h n i s (Washington).

**Kelley, W. P.,** Ammonification and nitrification in Hawaiian soils. (Hawaii Agric. Exper. Stat. Bull. 37. 1915. 52 pp.)

Die Arbeit umfaßt Mitteilungen über Stickstoffgehalt und Stickstoffumsetzungen in verschiedenen hawaiischen Erden, über die Wirkung einer partiellen Bodensterilisation, sowie über den Einfluß von Kalk und Magnesia auf die Ammoniak- und Salpeterbildung. Die zuletzt erwähnten Daten sind im 42. Bande der II. Abteilung des „Centralblattes für Bakteriologie“ (p. 519—526, 577—582) vom Verf. selbst ausführlich mitgeteilt worden, so daß sie hier übergangen werden können.

Die Böden von Hawaii sind im allgemeinen sehr reich an Stickstoff, aber dieser ist (wie auch sonst oft in den Tropen) nur schwer abbaufähig. Namentlich die Nitrifikation ist nicht selten sehr schwach, und es besteht oft kein Parallelismus zwischen Nitrifikationsvermögen und Fruchtbarkeit der betreffenden Erde. Namentlich gilt dies für Reis-, Taro- und Bananenfelder, für Weiden, Waldland u. a. Die Ammoniakzahlen sind in diesen Fällen meist auffallend hoch, und Verf. mißt demgemäß der Ammonifikation eine weit höhere Bedeutung bei als der Nitrifikation.

Längere Zeit fortgesetzte Bearbeitung des Bodens fördert den Stickstoffumsatz sehr. Desgleichen wirkt das Trocknen sehr vorteilhaft, namentlich wird dadurch in kultivierten Erden die Nitrifikation sehr angeregt; aber auch die Ammoniakbildung wird erheblich verstärkt.

Der günstige Effekt einer partiellen Bodensterilisation wird in Übereinstimmung mit Greig-Smith auf Änderungen und Aufschließungen

der kolloidalen Erdbestandteile zurückgeführt. Sie ist insofern der Wirkung der Bodenbearbeitung und Trocknung an die Seite zu stellen. Die Protozoentheorie E. J. Russells scheint für die hawaiischen Erden keine Geltung zu haben.

L ö h n i s (Washington).

**Mazé, P.,** Oxydation de l'ammoniaque ou nitrification par les végétaux. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 78. 1915. p. 98—102.)

Nachdem Verf. in früheren Arbeiten die geringen Nitritmengen, die auch er in vielen Bakterien-Kulturen „entdeckte“, (irrtümlicherweise) als einen Beweis für ein unter den Mikroorganismen weit verbreitetes Nitrifikations-Vermögen angesehen hatte, stellt er nun fest, daß auch sterile Pflanzenteile (Kartoffeln, Rüben, Wicken usw.), in Wasser aufbewahrt, (scheinbar) etwas salpetrige Säure bilden. Doch findet er weiterhin, daß auch reines Wasser, namentlich wenn es bei höherer Temperatur längere Zeit der Luft ausgesetzt ist, geringe Nitritmengen enthält, und er glaubt, dies (in offenkundiger Unkenntnis der zahlreichen, bereits zu dieser Frage vorliegenden Beobachtungen) damit erklären zu müssen, daß er eine spontane Oxydation der in der Luft vorhandenen Ammoniak-Spuren annimmt.

L ö h n i s (Washington).

**Lipman, C. B., and Sharp, L. T.,** Effect of moisture content of a sandy soil on its nitrogen fixing power. (Botan. Gazette. Vol. 59. 1915. p. 402—406.)

Sandboden wurde mit 2 Proz. Mannit vermischt, verschieden stark angefeuchtet und 21 Tage bei 28—30 C. aufbewahrt. Es ergaben sich die folgenden Resultate:

Wassergehalt der Erde in Gew.-Proz.	Stickstoff- gewinn in mg	Wassergehalt der Erde in Gew.-Proz.	Stickstoff- gewinn in mg
4	0,88	24	8,05
8	3,68	28	7,18
12	5,95	32	4,55
16	5,95	36	2,98
20	8,05		

Die Stickstoffbindung setzte also zwar schon bei relativ niedrigem Wassergehalte ein, doch erreichte sie erst dann eine ansehnliche Höhe, wenn mehr als 50 Proz. der Wasserkapazität der Erde gesättigt waren.

L ö h n i s (Washington).

**Hofer,** Versuche über die Vermehrung von stickstoffsammelnden Bakterien im Wasser. (Mitt. d. Deutsch. Landw. Gesellsch. 1915. St. 13.)

Die Frage der Stickstoffzufuhr in Teichen liegt viel komplizierter als man das nach Analogie mit dem Kreislauf des Stickstoffs im trockenen Boden hätte annehmen können. Bei den Versuchen zu Wielenbach i. Bay. ergab sich, daß es in der Regel nicht möglich ist, im Wasser den Stickstoff in anorganischer Form, d. h. als Salpeter, Ammoniak oder Kalkstickstoff, zur Wirksamkeit zu bringen. Alle diese Stoffe fallen der Denitrifikation anheim, für welche im Wasser die günstigsten Bedingungen vorliegen. Durch Anwendung der genannten Düngemittel ist daher kein durchschlagender Erfolg zu erzielen. Unter diesen Umständen wäre es daher von der größten



Bedeutung für die Teichdüngung, wenn es gelingen würde, stickstoffsammelnde Bakterien im Wasser durch Beigabe geeigneter Nährstoffe zur Massenvermehrung zu bringen und damit die sonst so wenig aussichtsreiche Möglichkeit der künstlichen Zufuhr von Stickstoff im Wasser zu schaffen.

Bei den Wielenbacher Versuchen wurde nach reichlicher Kaliphosphatdüngung den Versuchsteichen kohlenstoffreiches Nährmaterial für die Stickstoffsammler in verschiedener Form zugeführt. Zur Anwendung kamen Melasse, Abfallzellulose, gedämpfter Holzschliff, Biertreber und Sulfitlauge, also Stoffe, die reichliche Mengen von Kohlehydraten enthalten und, von Melasse abgesehen, auch so billig zu beschaffen wären, daß sie für eine Teichdüngung in größerem Maßstabe in Betracht kommen könnten. Ein Erfolg dieser Zufuhr organischer Substanzen konnte weder bakteriologisch (Zählung der *Azotobacter*zellen), noch durch chemische Analysen erwiesen werden. Es zeigte sich aber eine besonders starke Vermehrung der Fadenalgen, vornehmlich der Oedogonien, und es konnte erwiesen werden, daß diese Fadenalgen regelmäßig von *Azotobacter*zellen besetzt waren. Es darf daher wohl von dem massenhaften Wachstum der Fadenalgen auf eine gleichzeitige oder vorhergehende Vermehrung von *Azotobacter* geschlossen werden.

Ferner war in den „*Azotobacter*teichen“ sowohl die größte Menge von Plankton enthalten, als auch der größte Abwachs an Fischen erzielt worden. Die folgende Tabelle läßt dies erkennen:

	Zahl der Teiche	Plankton- Jahresmittel in l pro 1000 cbm Wasser	Mittel des Teich- zuwachses in kg pro $\frac{1}{6}$ ha
Ungedüngte Teiche . . . . .	3	10,6	22,8
Anorganisch gedüngte Teiche . . . . .	12	13,4	26,7
Organisch gedüngte Teiche:			
a) Mit organischem Stickstoff . . . . .	2	12,9	27,8
b) <i>Azotobacter</i> versuche . . . . .	9	16,7	32,0
Wert für alle Teiche zusammen	26	14,2	28,1

Verf. hat demnach den wichtigen Nachweis geführt, daß die *Azotobacter*vermehrung in den Teichen als eine wirksame Methode der Teichdüngung anzusprechen ist. Man wird mit Interesse seinen weiteren in Aussicht gestellten Untersuchungen entgegensehen dürfen. Vogel (Leipzig).

Beijerinck, M. W., Über das Nitratferment und über physiologische Artbildung. (Folia microbiol. Vol. 3. 1914. p. 91—113, m. 1 Taf.)

Auf Grund ausgedehnter Versuche kommt Verf. zu derselben Ansicht, die früher schon gelegentlich vertreten worden ist, daß nämlich das Nitratferment, wenn es in an löslichen organischen Stoffen reichen Substraten gezüchtet wird, sich rasch in eine gewöhnliche saprophytische Bakterie umwandelt, die dann dauernd ihre Befähigung zur Nitratbildung verloren hat. Es handele sich hier um physiologische Artbildung; aus dem *Nitrobacter oligotrophum* gehe das *Nitrobacter polytrophum* hervor.

Die Anhäufungskulturen der Salpeterbildner überziehen sich nach Verf. Erfahrungen regelmäßig mit einer Kahmhaut, in der neben verschiedenen anderen Aktinomycceten stets *Actinobacillus oligocarbo-philus* (früher *Bacillus oligocarbo-philus* genannt), sowie *Actinobacillus paulotrophus* vorkommen. Verf. wundert sich, daß dieser Kahmhautbildung von anderen Autoren fast nie gedacht wurde. (Ref. hat sie unter vielen hundert Fällen nur ganz ausnahmsweise zu Gesicht bekommen, als nämlich die betreffenden Kolben in einem Brut-schranke aufbewahrt wurden, in dem die Luft infolge eines nicht einwand-freien Gasregulators abnorm reich war an Kohlenoxyd, das seinerseits das Wachstum der betreffenden Organismen förderte.)

Die Salpeterbildner-Rohkulturen erwiesen sich auch reich an Amöben. Besonders war neben der schon früher beschriebenen *A. nitrophila* eine kleine Form sehr häufig, die *A. nana* genannt wird.

L ö h n i s (Washington).

Lipman, Ch. B., and Burgess, P. S., The protective action against  $MgCO_3$  of  $CaCO_3$  for *Azotobacter chroococcum*. (Journ. Agric. Scienc. Vol. 6. 1914. p. 484—498.)

Bei Versuchen mit *Azotobacter* in Lösungen wirkte  $CaCO_3$  in Mengen bis zu 2 Proz. nicht toxisch. Dagegen erwies sich  $MgCO_3$  als giftig, wenn mehr als 0,1 Proz. davon zugegen war. In Erde waren diese Grenz-werte 1,4 Proz. für  $CaCO_3$ , 0,1 Proz. für  $MgCO_3$ . Sind beide Substanzen zugleich zugegen, so vermindert  $CaCO_3$  die Giftigkeit des  $MgCO_3$ . Die ent-sprechenden Verhältniszahlen waren in Lösungen 6 Teile  $CaCO_3$  auf 1 Teil  $MgCO_3$  (1,25 resp. 0,2 Proz.), in Erde 15 Teile  $CaCO_3$  auf 1 Teil  $MgCO_3$  (1,50 resp. 0,1 Proz.).

L ö h n i s (Washington).

Weis, F., og Bornebusch, C. H., Om *Azotobacters* Forekomst i danske Skove, samt om *Azotobacter* prøvens Betydning for Bestemmelsen af Skovjorders Kalk-trang. [Über das Vorkommen des *Azotobacter* in dänischen Waldböden sowie über Bedeutung der *Azotobacter*probe für die Bestimmung des Kalk-bedürfnisses der Waldböden.] (Det forstlige Forsøgsvaesen i Danmark. IV. 1914. p. 319—340.) [Mit deutschem Resumé.]

Von 64 Lokalitäten in dänischen Wäldern, mit verschiedenem Bestande, wurden Erdproben untersucht auf *Azotobacter* (durch Aussaat in der Beijerinck'schen Nährlösung). An den meisten der Proben wurde eine *Azotobacter*probe auf Kalk unternommen, indem eine *Azotobac-ter*-Rohkultur einer Beijerinck'schen Nährlösung ohne Kalk zu-gesetzt wurde. Statt Kalk setzt Verf. 5 g der zu untersuchenden Erde zu. Die *Azotobacter*-Vegetation ist angewiesen, ihr ganzes Kalkbedürfnis aus derjenigen Kalkmenge zu befriedigen, die sich in der zugesetzten Erde befindet. *Azotobacter* kommt nur ausnahmsweise in dänischem Wald-boden vor, sicher nur dort, wo viel  $CaCO_3$  im Boden vorhanden ist. Es müssen also für die Versorgung mit N der Wälder niedere Pilzformen von Bedeutung sein. Der Grund des Ausfalls des *Azotobacter* ist vielleicht der Mangel an  $CaCO_3$ , zu niedrige Temperatur, zu viel Gehalt an Humusstoffen in den Waldböden. Die *Azotobacter*-Probe auf Kalk ist also eine bequeme Methode zum Nachweise, ob zur Verjüngung herangezogene Waldböden Kalk bedürfen. Denn die Kalkverbindungen, die in einer geringsten *Azoto-*

**bacter**-Kultur Wachstum bedingen, scheinen dieselben zu sein, die das Gedeihen derjenigen Organismen fördern, die einen guten Mullzustand hervorrufen und damit auch das Wachstum der Bäume, speziell der Rotbuche, fördern. — Nur zweimal fand Verf. im Waldboden selbst — unter Rotbuchenbeständen — *Azotobacter* in einer weißlichen Form, ähnlich dem *Azotobacter Beijerinckii* oder *Azotobacter vitreum*. Die Erde brauste in beiden Fällen stark mit Säure und reagierte stark alkalisch. Am herabgefallenen Laube fand Verf. *Azotobacter* nie. In Ackerböden nächst den Wäldern (in welchen letzteren *Azotobacter* nicht vorkam) ließ er sich leicht nachweisen, doch immer als *Azotobacter chroococcum*.  
Matouschek (Wien).

**Mulvania, M.**, Observations on *Azotobacter*. (Science. N. Ser. Vol. 42. 1915. p. 463—465.)

Beim erneuten Studium einer alten Kultur von *Azotobacter chroococcum* stellte sich u. a. heraus, daß, an Stelle des schwarzbraunen, ein gelber Farbstoff gebildet wurde, und es wurden Endosporen produziert, die erst durch 5 Minuten langes Erhitzen auf 90—95° C. abgetötet wurden. Außerdem wurde gelegentlich von Fettextraktionsversuchen die überraschende Tatsache festgestellt, daß *Azotobacter* in nahezu reinem Äther zu wachsen vermag; die Substanz dient als Kohlenstoffquelle.

Löhnis (Washington).

**Walton, J. H.**, *Azotobacter* and nitrogen fixation in Indian soils. (Mem. Dept. Agric. India. Bacteriol. Ser. Vol. 1. 1915. p. 98—112, w. 5 pl.)

Auch in Indien ließ sich *Azotobacter* praktisch in allen Böden nachweisen. Zur Anhäufung eignete sich die von Ashby in Vorschlag gebrachte Lösung besser als die von Bottomley empfohlene. Einflüsse der Jahreszeit machten sich nur in geringem Grade geltend. Zugabe von Humus oder von Filterpapier (nach Söhngens Vorschlag) zur Lösung förderte die Entwicklung sehr. Die Kulturen waren teils braun, teils weiß, teils gelb, und die einzelnen Zellen verhältnismäßig klein (in der Regel nur 1,5—2  $\mu$ ). Soweit sich dies nach den beigegebenen Photogrammen sagen läßt, scheinen auch einige dieser Kulturen zur Sporenbildung befähigt gewesen zu sein.

Löhnis (Washington).

**Molér, Thjelvar**, Ein Beitrag zur Kenntnis der Entbindung des durch *Azotobacter* fixierten Stickstoffes. (Botan. Notiser. 1915. p. 163—175.)

Verf. hat die Frage einer genaueren Prüfung unterworfen, in welcher Weise der von freilebenden, N-bindenden Bakterien und besonders von *Azotobacter*arten gebundene elementare Stickstoff den höheren Pflanzen zugänglich wird. Von besonderem Interesse war die Aufklärung der Frage, ob diese Bakterien schon im Leben lösliche N-Verbindungen ausscheiden, oder ob vielleicht die in den Bakterienzellen aufgespeicherten Stickstoffmengen den Pflanzen erst zugute kommen, nachdem die Lebens-tätigkeit der betreffenden Mikroorganismen abgeschlossen ist. Im ersteren Falle liegt die Möglichkeit vor, daß diese Organismen auch während ihres Wachstums und ihrer Entwicklung für die N-Versorgung der höheren Pflanzen Bedeutung haben könnten.

Der erste, welcher sich mit dieser Frage eingehender beschäftigte, war Krzemieniewski. Er kam zu dem Resultat, daß aus der *Azotobacter* zelle lösliche Stickstoffverbindungen ausgeschieden werden, und fand, daß ca. 13 Proz. der ganzen in der Kultur vorhandenen Stickstoffmenge in der benutzten Nahrungslösung vorkamen. Auch Lipman hat bedeutende Mengen von N-Verbindungen in den Filtraten von *Azotobacter*-Kulturen nachgewiesen.

Bei den Untersuchungen über diese Frage, die Molér angestellt hat, wurde ein besonderer Apparat benutzt, welcher eine Filtrierung (durch ein Porzellanfilter) während des Wachstums der Bakterien und eine fortwährende Versehung mit frischer, steriler Nahrungslösung ermöglichte. Das Ergebnis dieser, mit einer Reinkultur von *Azotobacter chroococcum* angestellten, sorgfältigen Untersuchung war, daß im Filtrat gar keine Stickstoffverbindungen vorhanden waren, und eine Ausscheidung gelöster Stickstoffverbindungen aus den *Azotobacter chroococcum*-Zellen somit nicht stattgefunden hat.

Auch das Filtrat einer älteren Kultur dieser Bakterie — wo man doch wohl nach  $\frac{1}{2}$  Jahre Autolyse eine beträchtliche Anzahl von Bakterienzellen annehmen dürfte — hat keine N-Verbindungen ergeben; dagegen enthielt das Filtrat einer *Azotobacter* rohkultur sehr viel Stickstoff, was Verf., in Anbetracht der geringen Wirkung, die proteolytische Fermente auf das *Azotobacter*-Eiweiß ausübten, weniger der Fäulnis toter Bakterienzellen, als dem Stoffwechsel lebendiger Amöben zuschreiben möchte. Diese treten nämlich massenhaft in den *Azotobacter* rohkulturen auf, wo sie allmählich die *Azotobacter* zellen verzehren. — Verf. hat auch Fütterungsversuche mit Reinkulturen von *Azotobacter chroococcum* an Amöbenarten angestellt. Infolge der positiven Resultate dieser Versuche hebt er hervor, daß durch den Nutritionsprozeß der Amöben ein beträchtlicher Teil des vom *Azotobacter* gebundenen N in wasserlösliche Form übergeführt wird, und daß das Auftreten der fraglichen Protozoen in sämtlichen untersuchten Erdproben, wo *Azotobacter* vorkam, es wahrscheinlich macht, daß auch in der Natur bei der Entbindung des Stickstoffes das tierische Zwischenglied eine große Rolle spielt.

Einige in gewöhnlichen Kulturkolben unternommene Versuche mit Reinkulturen von 2 anderen *Azotobacter* formen, nämlich *A. Vinelandii* und *A. agilis* (welche dadurch von *A. chroococcum* abweichen, daß sie einen grün-gelben fluoreszierenden Farbstoff ausscheiden), zeigten, daß in den Filtraten dieser Kulturen eine bedeutende Stickstoffmenge vorkam, und zwar beinahe ebensoviel, wie in der Bakterienmasse selbst. Die fraglichen *Azotobacter* formen unterscheiden sich somit auch in dieser Beziehung in interessanter und charakteristischer Weise von *Azotobacter chroococcum*.

Harald R. Christensen (Kopenhagen).

Fremlin, H. S., Further observations on nitroso-bacteria. (Journ. of Hyg. Vol. 14. 1914. p. 149—162.)

Das Nitrobakter konnte Verf. auf gewöhnlichen Nährböden züchten. Verf. studierte die für die Nitrifikation günstigen Bedingungen. Gutes Wachstum findet man auf Ammonium-Agar, noch besseres mit Zusatz von 5—10 Proz. Bazillen. Auch auf Kaliumphosphat-Agar mit Bouillon-Gelatine gab es gute Nitrifikation. Die Gegenwart organischer Substanzen hemmt keineswegs die

Nitrifikation. Auch Harn ist ein gutes Kulturmedium, auch Peptonwasser, Peptonbouillon, Milch oder Blutserum unter Zusatz von Ammoniumsulfat.

Robert Lewin (Berlin).

**Joshi, N. V.**, A new nitrite forming organism. (Mem. Dept. Agric. India. Bacteriol. Ser. Vol. 1. 1915. p. 85—96, w. 2 pl.)

Verf. isolierte einen *Actinomyces*, der, soweit ersichtlich ist, alle Merkmale des *Actinomyces oligocarbophilus* Beij. zeigt. Er glaubt, in ihm einen neuen Nitritbildner entdeckt zu haben.

Löhnis (Washington).

**Stewart, G. R.**, Availability of the nitrogen in Pacific coast kelps. (Journ. Agric. Research. Vol. 4. 1915. p. 21—38.)

Von den als Kali-Quelle für den nordamerikanischen Westen wichtigen „Kelp“-Algen sind die folgenden drei Arten von größter praktischer Bedeutung: *Macrocystis pyrifera*, *Nereocystis Luetkeana* und *Pelagophycus porra*. Sie kommen am besten in getrocknetem, gemahlenen Zustande zur Anwendung. Ihr Salzreichtum, sowie ihr Gehalt an Stickstoff und an organischer Substanz ließ entsprechende bakteriologische Untersuchungen angezeigt erscheinen; die Mineralisierung des Kelp-Stickstoffs sowie der Abbau von Blut- und von Baumwollsaat-Stickstoff in Gegenwart der Kelp-Salze (getrockneter Kelp enthält 30—45 Proz. lösliche Salze) wurden in verschiedenen Erd-Arten eingehend studiert. Verhältnismäßig leicht nitrifizierbar war der Stickstoff in *Nereocystis*; *Pelagophycus* stand wesentlich zurück und *Macrocystis* (die als Kali-Quelle wichtigste Art) besitzt äußerst resistente Stickstoff-Verbindungen. Namentlich in getrocknetem Zustande sind diese fast unangreifbar, während bei Verwendung frischen Materials immerhin noch ein ansehnlicher Stickstoff-Abbau stattfand. Die Kelp-Salze hemmten in den Mengen, in denen sie praktisch zur Anwendung kommen, die Mineralisierung des Blut-Stickstoffs nicht oder kaum; größere Quantitäten waren aber naturgemäß schädlich.

Löhnis (Washington).

**Molliard, M.**, L'azote libre et les plantes supérieures. (Compt. rend. de l'Acad. Paris. T. 160. 1915. p. 310—313.)

Verf. prüfte die Angaben von Mameli und Polacci, denen zufolge *Raphanus sativus* zu den stickstoffsammelnden Pflanzen gehören sollte, mit vollkommen negativem Erfolge nach.

Löhnis (Washington).

**Krieger, Rudolf**, Beiträge zur Kenntnis der Artfrage der Knöllchenbakterien einiger Leguminosen. [Inaug.-Dissert.] 80 pp. Dresden 1914.

Man hat behufs Entscheidung der Artfrage an steril aufgezogenen Leguminosen durch Infektion mit Wurzelbakterien Knöllchen erzeugt. Die erhaltenen Resultate fielen verschieden aus. Verf. wandte die serobiologische Methode an (Agglutination, Komplementbildung, seltener die Präcipitationsmethode). Die Reinkulturen des Verf. enthielten 19 diverse, von Leguminosenarten isolierte Knöllchenbakterien. Versuchstiere waren Kaninchen, vorbehandelt durch einen Stamm des *B. radicola*. Das auf diese Weise gegen einen Stamm eingestellte Serum wurde mit jedem der 19 Stämme als Antigen in Agglutinationsversuchen ausprobiert. Es ergaben sich folgende Verwandtschaftsgruppen der Knöllchenbakterien:

1. *Lupinus perennis*, *angustifolius*, *luteus*, *Ornithopus sativus*.

2. *Vicia sativa*, *Pisum arvense*.

3. *Medicago lupulina*, *sativa*, *Melilotus albus*, *Trigonella Foenum graecum*.

4. *Lotus uliginosus*, *Anthyllis vulneraria*, *Tetragonolobus purpurea*.

Zwischen *Vicia faba* und *Vicia sativa* ergab sich keine Verwandtschaft. *Phaseolus vulgaris*, *Trifolium pratense*, *Onobrychis sativa*, Soja hispida erwiesen sich weder untereinander noch mit den anderen untersuchten Stämmen als verwandt.

Matouschek (Wien).

Lipman, Ch. B., and Fowler, L. W., Isolation of *Bacillus radicicola* from soil. (Science. N. Ser. Vol. 41. 1915. p. 256—259.)

Unter Verwendung von Erdextrakt-Maltoseagar gelang es unschwer, Knöllchenbakterien direkt aus Erde zu züchten. 44 Stämme wurden isoliert; 21 von ihnen riefen bei Wicke Knöllchenbildung hervor, während es die übrigen nicht taten. Die Wickensamen wurden vor der Verwendung 10 Minuten in 1-promill. Sublimatlösung sterilisiert, danach mit destilliertem Wasser gewaschen, 20 Minuten mit konzentrierter Schwefelsäure behandelt und nochmals mit sterilisiertem, destilliertem Wasser gewaschen. Die Schwefelsäure wirkt sehr günstig auf die Keimfähigkeit der Wickensamen ein.

Löhnis (Washington).

Whiting, A. L., A biochemical study of nitrogen in certain legumes. (Illinois Agric. Exper. Stat. Bull. 179. 1915. p. 471—542, w. 17 pl.)

Die einschlägige Literatur wird zunächst eingehend besprochen. Durch eigene Versuche wird sodann nochmals festgestellt, daß der Stickstoff von den Leguminosen durch die Wurzel, nicht durch die Blätter aufgenommen wird. Hinsichtlich des Verlaufes der Stickstoffaufnahme, sowie in bezug auf die Verteilung des Stickstoffes in Wurzel, Stengel und Blättern ergeben sich allerhand interessante Einblicke aus den ausgeführten Analysen, zu denen Sojabohnen und cowpeas in verschiedenen Altersstadien verwendet wurden.

Löhnis (Washington).

Olaru, D., Action favorable du manganèse sur la bactérie des légumineuses. (Compt. rend. de l'Acad. Paris. T. 160. 1915. p. 280—283.)

Erbsenbakterienreinkulturen wurden in einer Abkochung von weißen Bohnen gezüchtet, der 2 Proz. Rohrzucker zugesetzt worden waren. Bei Abwesenheit von Mangan war die Stickstoffbindung gering (0,25—0,39 g N pro 100 g Zucker); eine Beigabe von Mangan (in welcher Form ist nicht gesagt) wirkte sehr förderlich; in den Kolben mit 2 mg „manganèse“ pro 100 ccm Nährlösung wurden 1,37—1,70 g N pro 100 g Zucker fixiert.

Löhnis (Washington).

Simon, Natürliche Impferde oder künstliche Bakterienkulturen zur Hülsenfruchtpfropfung? (Deutsch. landw. Presse. 1915. No. 28.)

Gegenüber Rhodin, der bei vergleichender Anwendung von Impferde und Bakterienkulturen (Azotogen) in Schweden in besonderen Fällen eine Überlegenheit der Naturimpferde feststellte und dies damit erklärt, daß die Knöllchenbakterien sich erst an die klimatischen Eigentümlichkeiten des

Anbauortes gewöhnen müßten, bevor sie gut wirksam werden, meint Verf., „daß weniger die klimatischen als vielmehr die lokalen Bodenverhältnisse das ausschlaggebende Moment für den Grad der Wirksamkeit beider Verfahren sind. Der Kulturzustand des Ackers, die Feuchtigkeits- und Durchlüftungsverhältnisse, der Nährstoffgehalt und manche andere Dinge sind von großem Einfluß auf die Wirkung der Impfbakterien nicht nur, sondern auf die Entwicklungsmöglichkeiten derselben im Boden überhaupt.“

Es ist stets zu beachten, daß der Impfstoff aus Lebewesen besteht, welche auch für sich günstige Existenzbedingungen benötigen.

Die Impferde ist daher nur in ganz besonderen Fällen den Reinkulturen überlegen. Sie übertrifft beispielsweise auf den der Bakterienentwicklung nicht günstigen unkultivierten Mooren die Bakterienimpfung, weil die größeren Erdmengen den Bakterien auf längere Zeit hinaus geeignete Vermehrungsbedingungen bieten, auf entwässertem und bearbeitetem Moorboden ergibt dagegen auch die Impfung mit Reinkulturen sehr gute Resultate. Das Azotogen kann aber auch leicht zur Herstellung größerer Mengen von Impferde benutzt werden, und eine solche Impferde wird vielfach der oft schwer erhältlichen natürlichen Impferde vorzuziehen sein. Vogel (Leipzig).

Voorhees, J. H., Variations in soy bean inoculation. (Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 7. 1915. p. 139—140.)

Impfversuche mit verschiedenen Varietäten von Sojabohnen führten zu dem auffallenden Ergebnis, daß derselbe Stamm von Sojabohnenbakterien nur bei einigen Varietäten Knöllchenbildung hervorrief, bei anderen dagegen nicht. (Bisher nicht veröffentlichte Versuche L. T. Leonards ergaben das entgegengesetzte und jedenfalls wahrscheinlichere Resultat, daß ein Unterschied in dieser Hinsicht bei den verschiedenen Sojabohnenvarietäten nicht besteht. Ref.) L ö h n i s (Washington).

Němec, B., O bakteriových blízkách serradelly. [Über die Bakterienknöllchen bei Serradella.] (Slavn. spisy turdy České Akadem. Pražské. II. 1915.) [Tschechisch.]

Durch Infektionsfäden geschieht gewöhnlich die Bakterieninfektion der Leguminosenwurzeln. Bei Serradella aber gibt es solche Fäden in typischer Form nicht, sie verlaufen vielmehr von der oberflächlichen Zoogloea durch die Rindenschichte zu dem meristematischen Gipfel, zweigen sich in der Rinde interzellulär ab und fehlen durchaus in den schon infizierten Zellen. Interzellulär verbreiten sich die Bakterien. Die jungen Knöllchen sind immer kugelförmig, später verlängern sie sich aber. Unter der geschichteten, abfallenden Rinde sind Gefäße des Bastes und Holzes; das Grundgewebe ist durch Bakteroidenparenchym gebildet. Die Fäden entwickeln sich zentripetal, durch die abfallenden äußeren Rindenzellen gelangen genug der Bakterien in den Boden. Nur klimatische Verhältnisse bringen es mit sich, wenn immer neue Bodeninfektion mit Serradella-Bakterien nötig wird. M a t o u s c h e k (Wien).

Spratt, E. R., The root nodules of the Cycadaceae. (Ann. of Botan. Vol. 29. 1915. p. 619—626, w. 1 pl.)

Die eingehend untersuchten und beschriebenen Knöllchen werden hervorgerufen durch *B. radicicola*. In den äußeren Zellschichten siedelt

sich außerdem *Azotobacter* an und eventuell auch *Anabaena*. Die eigentliche Algenzone wird gebildet durch Lufträume, erfüllt mit *Azotobacter* und *Anabaena*. Löhnis (Washington).

Bornebusch, C. H., Studier over Rødaellens Livskrav og dens Optraeden i Danmark. [Studien über die Lebensanforderungen der Schwarzerle (*Alnus glutinosa* L.) Gärten und ihr Auftreten in Dänemark.] (Tidsskr. for Skovvaesen. XXVI. 1914. p. 28—100.)

Die Schwarzerle geht in Dänemark zurück. Die Analysen des Bodenwassers und die Untersuchung des Wurzelsystems der auf den verschiedenen Lokalitäten wachsenden Bäume ergab folgendes:

1. Nur, wo das Bodenwasser O-haltig ist, gedeiht die Schwarzerle gut. Hier können sich die  $\frac{1}{2}$  m tief im Grundwasser versenkten Wurzeln ausbilden und die horizontal streichenden Wurzeln sind reichlich mit *Actinomyces*-Knöllchen versehen. An sumpfigen Stellen, wo das Bodenwasser in einer Tiefe von einigen wenigen cm O-frei ist, streichen die Wurzeln insgesamt horizontal und tragen nur spärlich ausgebildete Knöllchen. An solchen sauren Stellen entwickelt sich der Baum nur kümmerlich; er erliegt dem Angriffe der *Cryptospora suffusa*. Am besten gedeiht der Baum an Abhängen mit beweglichem Grundwasser und bei fließendem Wasser. Die Ursachen des Zurückgehens der Schwarzerle in Dänemark sind zweierlei: Die Umwandlung der Waldmoore in *Sphagnum*-Moore, und besonders die Abwässerung des Landes. Matouschek (Wien).

Hiltner, Der Hederich und der Ackersenf als Stickstoffschaffer. (Mitt. d. Deutsch. Landw. Gesellsch. 1915. St. 14.)

Die Vermutung des Verf., daß schon die Überschrift dieser Abhandlung manchen Leser zu einem Kopfschütteln veranlassen wird, ist sicher in volstem Maße eingetroffen und der Schlußsatz: „es möge uns heuer ein gutes Hederichjahr beschieden sein“, wird allgemeinstes Erstaunen erregt haben. Da aber Hiltner als Verfasser der dem hochverdienten Förderer der Bodenbakteriologie, Amtsrat Köster in Coldingen, gewidmeten Mitteilung zeichnet, so ist ihr Inhalt durchaus ernst zu nehmen.

H. geht von dem Gedanken aus, daß manche Kruziferen, wie Raps und Senf, nach vielen vorliegenden Beobachtungen die N-Sammlung im Boden begünstigen, anscheinend dadurch, daß sie sich von im Boden vorhandenen N-Formen ernähren können, die anderen Pflanzen nicht zugänglich sind. Es ist anzunehmen, daß auch Ackersenf und Hederich als nahe Verwandte des weißen Senfs sich ähnlich verhalten, und daß aus dieser Eigenschaft der genannten Unkräuter die mit ihnen heranwachsenden Kulturpflanzen Vorteile ziehen können. Die Zerstörung des Unkrautes durch Bespritzen müßte allerdings, wenn die Fähigkeit zur N-Erschließung ausgenutzt werden soll, zu einer späteren als der jetzt üblichen Zeit geschehen, wenn eine größere Masse gebildet ist. Es gelingt dies selbst zur Zeit der beginnenden Blüte durch Anwendung von Lösungen mit mindestens 25 Proz.  $\text{FeSO}_4$ , recht gut.

H. führt aus seiner umfangreichen Praxis eine Reihe von Fällen an, bei welchen kurze Zeit nach der Eisenvitriolbespritzung eine starke Förderung des Sommergetreides eintrat, die vielfach an die Wirkung einer Salpeterkopfdüngung erinnerte. Verf. meint nun, daß diese Entwicklungs-



förderung des Getreides auf die düngende Wirkung der vernichteten Pflanzenteile des Hederichs und Ackersenfs zurückzuführen ist, und es ist ihm wahrscheinlich, daß durch die plötzliche Vernichtung der zwischen den Getreidepflanzen wachsenden Unkräuter in deren Wurzelbereich vorhandener, zum Teil vielleicht aus der Luft gesammelter N, den Getreidepflanzen zugänglich wird. (Wie es möglich sein soll, daß solcher in Form von Pflanzen- oder Bakterienkörpersubstanz vorliegender N innerhalb weniger Tage zu deutlich sichtbarer Wirkung kommt, dieses Geheimnis ist von H. nicht entschleiert worden. Er schließt allerdings aus Versuchen von Gutzeit, daß nach erfolgter Hederichvernichtung durch Eisenvitriol eine besonders lebhafte Nitrifikation einsetzt, es muß aber doch als ganz ausgeschlossen gelten, daß der in den Unkrautmassen, die zudem nicht mit dem Boden vermischt werden, angehäuften N zu so überaus rascher Wirkung kommt. Ref.)

Vogel (Leipzig).

**Damm, O.,** Die Pflanze und der Stickstoff der atmosphärischen Luft. (Prometheus. Bd. 26. 1915. p. 522—525.)

Der Luftstickstoff hat die Fähigkeit, sich mit naszierendem Wasserstoff bei Gegenwart eines Katalysators, unabhängig von einem Organismus, zu verbinden (Loew). Es ist also leicht möglich, daß Mameli und Polacci Recht mit ihrer Behauptung haben, es vermögen alle Pflanzen bei gewissen Bedingungen den atmosphärischen Stickstoff zu binden, also nicht nur die Leguminosen, Erle, *Elaeagnus*, *Podocarpus* usw. — Wie sich die Vorgänge in den Wurzelknöllchen der Leguminosen abspielen, weiß man bis jetzt noch nicht genau. — Winogradsky und Beijerinck haben Bakterien entdeckt (*Clostridium Pasteurianum* und *Azotobacter chroococcum*), die stark den Luftstickstoff binden; *Bacillus radicicola* vermag dies nicht. Die angegebene Fähigkeit kommt auch Fadenpilzen zu (*Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*, *Macrosporium commune*, *Phoma*-Arten usw.).

Matouschek (Wien).

**Düggeli, M.,** Harnstoffzersetzende und salpeterbildende Spaltpilze. (Naturw. Wochenschr. Bd. 14. 1915. p. 305—315.)

I. Verf. kultivierte Harnstoffbakterien auf folgende Art: 10—20 ccm Harnstoffbouillon enthaltende Reagenzgläser werden mit etwas Aufschwemmung von Gartenerde in Wasser geimpft und in den Brutschrank oder Thermostaten (30° C) gestellt. Nach 1—2 Tagen tritt in Bouillon (1 % Pepton und 2 % Harnstoff zu Fleischbrühe gegeben) starke Trübung, deutlicher Bodensatz und kräftige alkalische Reaktion auf. Durch Anlegen von Harnstoffgelatineplattenkulturen aus dieser gärenden Flüssigkeit, die schon reichlich Harnstoffbakterien enthält, gelingt es regelmäßig, Kolonien von Urobakterien zu erhalten. Auf diesen Kulturen erkennen wir die Kolonien der Harnstoffbakterien schon makroskopisch leicht durch die Bildung eines Hofes, der die Newtonschen Farbenringe schön zeigt. Je stärker dieser Hof ausgebildet ist, desto kräftiger spaltet die betreffende Bakterienart den Harnstoff. Vom Aussehen der Kolonie kann ein wahrheitsgetreuer Rückschluß auf ihre physiologisch-biologische Funktion gezogen werden. Die oben erwähnte irisierende Aureole ist der kristallinische Niederschlag von viel Calciumkarbonat und etwas Calciumphosphat, bedingt durch die Ammonkarbonatproduktion der Spaltpilze. — Verf. fand Harnstoffbakte-

rien in allen Böden, auch in alpinen Bodenproben; die Menge schwankte natürlich. Die häufigsten Arten waren: *Micrococcus ureae* Cohn, *Planosarcina ureae* Beij., dann die nicht sporenbildenden Stäbchenarten *Urobacterium Freudenreichii* Miqu., *U. Miquelii* Beij., *U. Beijerinckii* Christ., ferner *Bacterium fluorescens* Flügge, *B. vulgare* Hauser, *B. coli* Esch., *B. prodigiosum* Chr., *B. erythrogenes* Grot. Die sporenbildenden Stäbchen umfassen die kräftigsten Harnstoffzerstörer, u. zw. *Urobacillus Pasteurii* Miquel und *Urobacterium Duclauxii* Miquel. Hierzu kommen die zwei verbreiteten Bodenbakterien *Bacillus megatherium* de Bary und *B. mycoides* Flügge. — Hatte Verf. die Züchtungstemperatur im Thermostaten auf 42° C eingestellt, so gingen die nichtsporenbildenden Arten in wenigen Stunden zugrunde, während die Sporen erst bei 80—90° in einigen Stunden getötet wurden.

II. Um Rohkulturen von nitrifizierenden Spaltpilzen zu gewinnen, schlägt Verf. folgenden Weg ein: In weitausladende Erlenmeyerkölbchen wird soviel mineralische Nährlösung gegeben, daß dieselbe nur 1 cm hoch im Gefäße steht. Die Lösung besteht aus einer 1-promill. Lösung von Dikaliumphosphat im Leitungswasser. Dann eine Messerspitze pulverisiertes Magnesiumkarbonat in den Kolben und, nach erfolgter Sterilisation im strömenden Wasserdampf, noch etwas Ammonsulfat gegeben (am besten 2 ccm einer 2 proz. wässrigen Lösung). Diese Nährlösung gewährt, da in dünner Schicht, guten Sauerstoffzutritt, und wird mit einer Spur Gartenerdeemulsion geimpft und im Thermostaten bei 35—37° C bebrütet. Erst nach Verlauf von 10—14 Tagen bemerkt man schwache Bakterienentwicklung in Form einer sehr dünnen, zarten Decke an der Flüssigkeitsoberfläche und als kleine Klümpchen auf dem weißen Bodensatz von  $MgCO_3$ . Trotz dieser schwachen Spaltpilzentwicklung, ist doch die Nährlösung reich an Nitrit und Nitrat geworden. Die Übertragung der Bakterien auf Gelatineplatten bringt keine Kulturmöglichkeit, wohl aber die in neue Nährlösungen.

Prüfungen von Böden zeigte dem Verf., daß die Salpeterbildner in allen Böden mit neutraler Reaktion  $\pm$  reichlich vertreten sind und daß sie selbst im Alpenhumus, der doch zu 80—90 Proz. aus Humusstoffen besteht, sich guten Gedeihens erfreuen können.

Die Nitrifizierenden sind ein wertvolles Glied im Kreislaufe des Stickstoffes und des Kohlenstoffes in der Natur. Die grünen Pflanzen treiben Photosynthese, die genannten Bakterien aber Chemosynthese. Das vom Verf. beobachtete Vorkommen der Nitrifizierenden im frischen Verwitterungsschutt der Alpen, ja sogar in den Klüften und Spalten der Gesteine in unmittelbarer Nähe des ewigen Schnees, zeigt die Wichtigkeit dieser Spaltpilz bildner als Verwitterungsfaktor. — Von dem „Chilinit“ hält Verf. nicht viel; er ist gegen eine Bodenimpfung, indem er folgende Überlegung pflegt: Die Spaltpilze sind überall da in der Natur sehr verbreitet, wo ihnen die Verhältnisse zusagen; an solchen Orten vermehren sie sich kräftig und entfalten auch intensive Tätigkeit. Sind die Standortverhältnisse ungünstig, so nützt auch das Zufügen der Bakterien durch Impfung des Bodens nicht viel, es müssen die Entwicklungsbedingungen für bestimmte erwünscht arbeitende Mikroorganismen im Boden recht günstig gestaltet werden.

Matouschek (Wien).

**Sackett, W. G. and Isham, R. M.**, The origin of the „niter spots“ in certain western soils. (Science. N. Ser. Vol. 42. 1915. p. 452—453.)

Es wird gezeigt, daß, entgegen einer dahin gehenden, von R. Stewart und Peterson vertretenen Annahme, die braune Farbe der an Salpeter abnorm reichen Erden in Colorado nicht einfach auf eine weitgehende Löslichmachung der organischen Bodenbestandteile durch das bei der Ionisation des Nitrates freiwerdende Natriumhydroxyd zurückgeführt werden kann. Wäre diese Annahme richtig, dann müßten auch die an Sulfaten reichen Alkaliböden eine braune Farbe zeigen, denn die Sulfate sind (entgegen Stewart und Peterson) nicht schwerer, sondern leichter zersetzlich als die Nitrate. Verff. sind nach wie vor der Ansicht, daß das an den betreffenden Stellen reichlich vorhandene *Azotobacter* für diese eigentümliche Färbung des Bodens verantwortlich zu machen ist.

L ö h n i s (Washington).

**Troussoff, A.**, Die Humusbildung aus Bestandteilen des Pflanzenorganismus. (Selskoie Choziastw. i Lesovozdstvo. 74. 194. p. 233—246.) [Russisch.]

Laboratoriumsversuche zeigten, daß die Humusbildung einer Reihe von genau bestimmten Reaktionen, besonders mit den Aldehyd-Alkoholverbindungen, den Keton-Alkoholverbindungen usw. zuzuschreiben sei. In der Natur wird sich die Humusbildung in gleicher Art vollziehen, aber die Mikroorganismen spielen die Rolle der Basen und Säuren. Die Erzeugung des Humus ist als Zwischenstufe bei der Verkohlung der Stoffe, deren Endstadium die Kohle sein würde, anzusehen. Die Humusbildung wird bewirkt durch Basen und Säuren, nicht aber durch oxydierende Stoffe.

M a t o u s c h e k (Wien).

**Weir, W.**, The effect of removing the soluble humus from a soil on its productiveness. (Journ. Agric. Science. Vol. 7. 1915. p. 246—253.)

Erde vom Versuchsfelde Rothamsted wurde mit Salzsäure und Alkali extrahiert; 40 Proz. des Gesamtstickstoffs gingen dabei in Lösung. Der ausgelaugte Rückstand diente zu Vegetationsversuchen. Die Ernten waren durch die vorausgegangene Behandlung fast gar nicht beeinflußt, die Intensität der Ammoniakbildung war etwas und die Keimzahl stark erhöht; die Nitrifikation dagegen war deutlich vermindert.

L ö h n i s (Washington).

**Arnd, Th.**, Über schädliche Stickstoffumsetzungen in Hochmoorböden als Folge der Wirkung starker Kalkgaben. (Landw. Jahrb. 1916. p. 191—213.)

Verf. kam in seiner I. Mitteilung über diesen Gegenstand<sup>1)</sup> zu dem Ergebnis, daß im Moorboden mit Vorgängen der Denitrifikation und der chemisch biologischen Nitratzersetzung zu rechnen ist. Er suchte diesen Erscheinungen entgegenzutreten durch Beseitigung der ihnen günstigen Verhältnisse und durch direkte Schädigung der beteiligten Mikroorganismen mit Hilfe von bakteriziden Stoffen. Von der richtigen Annahme ausgehend, daß im nitratedüngten Moorboden 2 Bedingungen für die Entwicklung der Denitrifikatoren stets gegeben sind, nämlich die Gegenwart von Nitrat und von leicht assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen, suchte er die 3. wichtige Lebens-

<sup>1)</sup> Siehe diese Zeitschrift Bd. 44. p. 407.

bedingung dieser Arten, den beschränkten Luftzutritt, durch entsprechende Bodenbearbeitung auszuschalten. Das gelang auch vollständig. Bei völlig ungehindertem Luftzutritt konnte in gekalktem und mit Nitrat versetztem Heidehumus jeder Stickstoffverlust vermieden werden unter den gleichen Bedingungen, unter denen mit zunehmender Beschränkung des Luftzutritts auch stark zunehmende Stickstoffverluste eintraten. Praktisch nutzbar kann diese Beobachtung allerdings nur bis zu einem gewissen Grade gemacht werden, da sich eine sehr weitgehende Durchlüftung des Moorbodens aus verschiedenen, näher dargelegten Gründen verbietet.

Von desinfizierend wirkenden Stoffen wurden verwendet: die schwefelsauren Salze des Kupfers, Mangans und Zinks, sowie Karbolineum, Toluol und Schwefelkohlenstoff. Die Metallsalze waren selbst in höheren Gaben wirkungslos, d. h. sie verhinderten den Eintritt von Stickstoffverlusten nicht. Ebenso verhielt sich Karbolineum. Toluol und Schwefelkohlenstoff zeigten dagegen die erwartete Wirkung, sie hemmten die Denitrifikationserscheinungen in sehr erheblichem Maße.

Verf. schließt aus seinen Untersuchungen folgendes:

Die in stark gekalktem, salpeterhaltigen Hochmoorboden unter Entbindung freien Stickstoffs vor sich gehenden Stickstoffumsetzungen sind von der Stärke der Bodendurchlüftung abhängig; verminderter Luftzutritt verursacht starke Zunahme der Stickstoffentbindung; möglichst weitgehende Bodenlockerung hat Abnahme der Verluste zur Folge. Noch in einer Hochmoorbodenschicht von 1 cm Höhe und normalem Wassergehalt findet unter den erwähnten Bedingungen Stickstoffentbindung statt; von einer durchgreifenden Bodenbearbeitung allein ist daher eine ausschlaggebende Abhilfe nicht zu erwarten.

Der biologische oder biologisch-chemische Charakter der in Frage stehenden Vorgänge erhellt aus der Möglichkeit, sie durch Zusatz bakterizider Stoffe zum Boden zu beeinflussen. Als solche sind die Salze von Schwermetallen wegen ihrer chemischen Umsetzung mit den Humussäuren des Bodens und wegen ihrer Bindung durch Adsorption für den Moorboden ungeeignet. Eine gute bodenreinigende Kraft dagegen zeigen auch auf Hochmoorboden Toluol und Schwefelkohlenstoff.

Vogel (Leipzig).

**Krüger, W., u. Roemer, H.,** Versuche über die Wirkung verschiedener Stickstoffdünger unter Berücksichtigung der Jauche und der Luftstickstoffpräparate. (Mitteil. d. herzogl. anhalt. Versuchsanst. Bernburg. 1914. p. 3—43.)

Der prozentige Stickstoffgehalt der Ernteprodukte von Hafer, Gerste und Kartoffeln wurde (auf Grund der von den Verfassern innerhalb dreier Jahre durchgeführten Feldversuche) nur wenig beeinflusst; bei Hafer regelmäßiger als bei Gerste, bei frischen Knollen der Kartoffeln nur recht wenig. Der Körnergehalt wurde im Verhältnis zum Stroh nur recht wenig herabgedrückt. Die Ausnützung des Stickstoffs der Düngung ist wohl eine wechselnde gewesen, aber sie war am stärksten durch Hafer, dann erst durch Kartoffeln, am niedrigsten durch Gerste. Auf den Stärkegehalt der Knollen hatte die Stickstoffdüngung nie einen ungünstigen Einfluß. — Der Kalksalpeter kommt dem Chilisalpeter in der Wirkung gleich. Schwefelsaurer Ammoniak war weniger wirkungsvoll; nur beim Hafer stellte er sich gleich dem Salpeterstickstoff. Bei der Kartoffel aber sinkt die Wirkung des genannten Ammoniaks auf  $\frac{3}{4}$ — $\frac{4}{5}$  des Wirkungswertes des Salpeters zu-

rück. Der Stickstoffkalk verhält sich bezüglich der Kartoffel ähnlich, d. h. er bleibt hinter der Wirkung des Ammoniaks zurück. Bezüglich des Getreides gleichen die Wirkungen des Ammoniaks denen des Stickstoffkalkes. Die Jauche versagte bei der Kartoffel. Auffällig ist die günstige Wirkung des Kaliumnitrits, namentlich bezüglich der Kartoffel, bei der sie gleichkommt der Wirkung der beiden oben genannten Salpeterarten.

Matouschek (Wien).

**Kellerman, K. F., and Smith, N. R.,** Bacterial precipitation of calcium carbonate. (Journ. Washington Acad. Scienc. Vol. 4. 1914. p. 400—402.)

Auf dreierlei Weise können Bakterien zur  $\text{CaCO}_3$ -Abscheidung beitragen: 1. Produzieren sie gleichzeitig Ammoniak und Kohlensäure, so kann in Lösung befindlicher Gips in  $\text{CaCO}_3$  übergeführt werden; 2. Ammoniak allein kann in Calciumbikarbonat-haltigen Lösungen zur Bildung von  $\text{CaCO}_3$  und  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  Veranlassung geben; 3. bei der Oxydation von organischen Kalksalzen kann  $\text{CaCO}_3$  in ansehnlichen Mengen auftreten. Das früher von Drew aus Meerwasser isolierte, Kalk abscheidende *Bact. calcis* wurde nochmals eingehend untersucht. Wegen seiner polaren Begeißelung wurde es in das Genus *Pseudomonas* versetzt.

Löhnis (Washington).

**Kyropoulos, S.,** Über die Festlegung von Kali durch Bodenbakterien. (Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1915. p. 161—166).

Bakterien des Bodens können Bodennährstoffe, speziell N- und P-haltige, in Lösung bringen und im eigenen Körper festhalten; diese sind also zeitweilig für die Pflanzen unaufnehmbar. Gilt diese Erscheinung auch für Kali? Dies untersuchte Verf., indem er sich zunächst Erdkulturen zuwandte. Gleiche Mengen von Felderde wurden mit verschiedenen Dosen von Kalisalz versetzt, auf gleichen Wassergehalt gebracht und mehrere Wochen bei 20—25° im Brutzimmer sich selbst überlassen. Gab man Rohrzucker in die Versuchstöpfe, so steigerte dies die Vermehrung der Bodenbakterien. Die letzteren haben den Kaligehalt nicht herabgesetzt. Versuche mit Flüssigkeitskulturen ergaben das gleiche.

Matouschek (Wien).

**Bottomley, W. B.,** A bacterial test for plant food accessories (auximones). (Proceed. Roy. Soc. London. Ser. B. Vol. 89. 1915. p. 102.)

Nach früheren Mitteilungen des Verf.s sollen in dem durch Zusatz „gewisser“ (jedoch in keiner der sehr zahlreichen betreffenden Veröffentlichungen näher charakterisierter) Bakterien „bakterisierten“ Torf „gewisse“, günstig auf das Pflanzenwachstum einwirkende Stoffe vorhanden sein, die den Vitaminen an die Seite zu stellen seien. Von diesen unterscheiden sie sich indessen durch ihre Hitzebeständigkeit. Sie werden deshalb mit dem besonderen Namen „auximones“ belegt. Wird solch „auximones“-haltiger Humus einer nitrifizierenden Rohkultur (in Ammonsulfatlösung) zugesetzt, so tritt Schaumbildung auf, die Verf. nicht beobachten konnte, wenn statt dessen Zucker, Asparagin, Pepton oder dergl. beigegeben wurden. Es sei deshalb hierin eine spezifische, bakteriologische Prüfung auf die Gegenwart von diesen „auximones“ gegeben, mit deren Hilfe die Anwesenheit dieser Substanzen nun auch in Stalldünger und in den Wurzelknöllchen der Leguminosen nachgewiesen werden konnte.

Löhnis (Washington).

**Heinze, B.**, Über den günstigen Einfluß einer vermehrten Kalkzufuhr auf die gesamten Organismen. (Landwirtschaftl. Mitteil. f. d. Prov. Sachsen, Beil. z. Halleschen Ztg. 1912. p. 181—183, 185—186.)

Emmerich und Loew zeigten, daß Calcium in organischer Bindung ein wesentlicher Bestandteil aller Zellen sei und daß immer eine Bindung an den Zellkern vorliege. Das von anderen niederen Algenformen abweichende Verhalten der kräftig assimilierenden Grünalgen *Spirogyra* und *Vaucheria* deutet darauf hin, daß die völlige Abhängigkeit der Pflanzen vom Calcium erst eine allmählich erworbene Eigenschaft ist, und zwar eine solche, die erst im Zusammenhang mit der Assimilation erworben wurde. Versuche der genannten Forscher über die Widerstandsfähigkeit von diversen Tieren bei reichlicher Kalkzufuhr gegen Infektionskrankheiten (Rotlauf der Schweine, Milzbrand, Tuberkulose) weisen auf eine erhöhte bakterientötende Wirkung im Körper hin. Nach Hamburger befördern Chlorcalciumsalze die Phagozytose. — Versuche mit Mikroorganismen müssen uns erst aufklären über das „Wie“ der Wirkung der Ca-Verbindungen.

Matouschek (Wien).

**Kappen**, Düngungsversuch mit Umwandlungsprodukten des Kalkstickstoffs. (Die landw. Versuchsstat. Bd. 86. 1915. p. 115—136.)

Geprüft wurde im Düngungsversuche durch Cyanamidkatalyse fabrikmäßig aus Kalkstickstoff dargestellter Harnstoff, ferner salpetersaurer Harnstoff und salpetersaures Guanidin. Dieses zeigte eine sehr ungenügende, wahrscheinlich nur auf seinen Salpetersäuregehalt zurückzuführende Düngewirkung, die Harnstoffpräparate waren dagegen zur Stickstoffernährung der Pflanzen ebensogut geeignet wie Salpeter. Ein event. Gehalt der Präparate an Dicyandiamidin beeinträchtigt ihre gute Düngewirkung.

Vogel (Leipzig).

**Schmoeger, M.**, Eine neue Methode der Jauchekonservierung. (Westpreuß. landwirt. Mitteil. XX. 1915. p. 34 ff.)

Milchsäurebakterien bedürfen, neben wenig N-haltiger Stoffe und Salzen, unbedingt Zucker als C-Quelle, der in den meisten Futterstoffen vorkommt. Im Urin ist der Zucker nicht vorhanden, daher muß ein Zusatz von ihm für die Normalentwicklung des Milchsäurebacillus in der Jauchegrube erforderlich sein. Zur Konservierung von 100 Zentnern Jauche braucht man 0,5 Zentner Zucker, die 3,1 Zentner Zuckerrüben entspricht. Mit bestem Erfolge kann bei der Urin-Konservierung *Bacillus cucumeris fermentati* verwendet werden. Die Herführung der Bakterien erfolgt in vorher gekochten Lösungen mit 10 Proz. Reibsel aus Zuckerrüben oder etwa 5 Proz. Melasse oder 10 Proz. süßer Kartoffelmaische und 90 Proz. Wasser. Bei etwa 15° C mit zuckerhaltigen Stoffen und Milchsäurereinkulturen versetzter Urin enthält nach 1—2 Tagen bereits das Maximum an freier Milchsäure, das den Urin dauernd konserviert; nur muß Luft abgehalten werden. Dazu ist es nötig, den Urin aus den Ställen in wasserdicht gemauerte Gruben zu leiten, die mit Teeranstrich versehen sind. Auf die Grubenflüssigkeit schütte man 1 cm hoch Öl. Diese Stickstoffbindung ist wichtig und bringt großen Gewinn (bei 100 Zentnern Urin etwa 30 Mark).

Matouschek (Wien).

**Vogel, J., Einige Versuche mit Jauche.** (Mitt. d. Deutsch. Landw. Gesellsch. 1915. St. 34.)

Die Versuche galten der Beantwortung der Fragen:

1. Wie wirkt einerseits die Behinderung des Luftzutritts, andererseits die Fernhaltung von Verunreinigungen auf den N-Gehalt der Jauche ein?

2. Welche Umwandlungen erfährt der Stickstoff der Jauche nach ihrer Aufsaugung in Torfstreu?

Es konnte zunächst beobachtet werden, daß bei beschränktem Luftzutritt sauber aufbewahrter Harn nur sehr allmählich in ammoniakalische Gärung übergeht. Nach mehreren Monaten zeigen solche Proben jedoch erhebliche N-Verluste. Bewirkt man aber, etwa durch Ölbedeckung, völligen Luftabschluß, dann erfährt der N-Gehalt auch bei langer Versuchsdauer keine Abnahme. Bei einem Versuche betrugen beispielsweise die Gesamtverluste an N innerhalb von 3 Monaten:

bei Rinderharn ohne Ölbedeckung . . .	28,5 %
„ „ mit „ . . .	1,5 %

Die Umwandlung des Harnstoffes in kohlen saures Ammoniak geht auch bei Luftabschluß unbehindert weiter, und diesem Umstand ist es zuzuschreiben, daß die nur durch Ölbedeckung vor N-Verlusten geschützte Jauche nur dann eine befriedigende Wirkung auf dem Felde erkennen läßt, wenn sie sofort gründlichst mit dem Boden vermischt wird. Andernfalls hat man mit starken Verdunstungsverlusten an Ammoniak zu rechnen.

Auch in der von Torfstreu aufgesaugten Jauche geht die Ammoniakbildung kräftig vor sich, und es kann bei ungünstigen Lagerungsbedingungen zu starken N-Verlusten kommen. Vor allem ist die Torfstreu-Jauche vor Luftzutritt und Austrocknung geschützt aufzubewahren. Geschieht dies nicht, dann können etwa 50 Proz. des Harn-N nach wenigen Wochen verloren gegangen sein, während gleichzeitig ein beträchtlicher Teil des löslichen N in unlöslicher Form festgelegt wird. In der Torfstreu fehlt es also nicht an Nahrungsstoffen für die harnstoff- und ammoniakassimilierenden Bakterien. Von einem solchen Dünger sind befriedigende Wirkungen auf dem Felde nicht mehr zu erwarten.

A u t o r e f e r a t.

**Wagner, Paul, Darmstädter Stallmistversuche.** (Mitt. d. deutsch. Landw. Gesellsch. 1915. St. 4.)

Aus der Arbeit sind einige Zahlen von Interesse. Auf einem Sandboden (19 Proz. Staub, 0,077 Proz. N) sanken die Erträge ohne jede Düngung im Laufe von 12 Jahren in folgender Weise:

Kartoffeln:		Roggenkörner	
148 dz im 1. Jahr		21,5 dz im 2. Jahr	
123 „ „ 5. „		22,7 „ „ 4. „	
60 „ „ 7. „		20,0 „ „ 6. „	
47 „ „ 9. „		17,8 „ „ 8. „	
30 „ „ 11. „		16,6 „ „ 10. „	
		9,6 „ „ 12. „	

Der äußerst geringe Ertrag von 9,6 dz. Körnern im 12. Versuchsjahre ist nicht ausschließlich das Ergebnis des abnehmenden Nährstoffgehaltes des Bodens, sondern auch die Folge der ausnehmend großen Dürre des Jahres 1911.

Der 12 Jahre lang ungedüngt gebliebene Sandboden hat aus seinem Vorrat an die Pflanzen abgegeben:

Im Laufe der 4 Jahre	Phosphorsäure kg p. ha	Kali kg p. ha	Stickstoff kg p. ha
des 1. Umlaufs . . . . .	61,9	146,8	153,9
„ 2. „ . . . . .	53,1	138,5	133,7
„ 3. „ . . . . .	32,7	85,1	88,4

Wurde der Boden einseitig, d. h. mit je zwei Nährstoffen unter Weglassung des dritten gedüngt, dann wurden durch die Pflanzen entzogen:

Im Laufe der 4 Jahre	Wenn jährlich mit Kali und Stickstoff gedüngt wurde	Wenn jährlich mit Phosphorsäure und Stickstoff gedüngt wurde	Wenn jährlich mit Kali und Phosphorsäure gedüngt wurde
	Phosphorsäure kg	Kali kg	Stickstoff kg
des 1. Umlaufs . . . . .	83,2	272,8	219,0
„ 2. „ . . . . .	94,3	234,7	184,3
„ 3. „ . . . . .	80,2	153,3	122,5

Durch die einseitigen Düngungen sind also höhere Mengen der einzelnen Nährstoffe aus dem Boden herausgeholt worden. Eine Erklärung für diesen Befund dürfte (nach Ansicht des Ref.) nicht schwer zu finden sein. In den einseitig gedüngten Böden sind bestimmte, an der Erschließung der Bodennährstoffe beteiligte Gruppen von Mikroorganismen in ihrer Entwicklung gefördert worden. Wenn ein Boden mit Kali und Stickstoff, nicht aber mit Phosphorsäure gedüngt wird, so werden in ihm erheblich größere Phosphorsäuremengen mobil werden als im gänzlich ungedüngten, weil die Zufuhr von Kali und N die üppige Entwicklung einer großen Anzahl von Organismen ermöglicht, die an der Löslichmachung der Phosphate sich beteiligen. Das gleiche gilt für die übrigen Nährstoffe.

Bei Düngung mit Salpeter waren im Mittel der 12 Jahre dem Boden 64 kg Salpeterstickstoff für Jahr und ha zugeführt und 83,4 kg durch die Ernten entzogen worden. Der N-Entzug war also um 19,4 kg größer als der Ersatz. Ausschließliche Stallmistdüngung hat die Erträge beträchtlich gesteigert. Im Mittel der 12 Jahre waren in den Ernten auf Jahr und ha enthalten:

nach ausschließlicher Stallmistdüngung . . . . . 55,4 kg Stickstoff  
bei ungedüngt . . . . . 31,0 „ „  
also mehr bei Stallmistdüngung . . . . . 24,4 kg Stickstoff.

Von dieser N-Menge hatten die Pflanzen 13,6 kg dem N-Vorrat des Bodens entnommen, nur den Rest von 10,8 kg N hatte der Stallmist geliefert. Im Mittel aller Versuche waren von den Pflanzen aufgenommen worden:

Aus 96,0 kg Thomasphosphorsäure . . . . . 13,3 kg = 13,9 %  
„ 33,9 „ Stallmistphosphorsäure. . . . . 10,3 „ = 30,4 %  
„ 76,3 „ Staßfurter Kali . . . . . 43,3 „ = 57,4 %  
„ 52,1 „ Stallmistkali . . . . . 44,4 „ = 85,2 %  
„ 64,0 „ Salpeterstickstoff . . . . . 39,6 „ = 61,9 %  
„ 42,7 „ Stallmiststickstoff . . . . . 10,8 „ = 25,3 %

Kali und Phosphorsäure des Stallmistes sind also erheblich besser ausgenutzt worden, als die in Form von Thomasmehl und Kalisalzen gegebenen Nährstoffe, die Ausnutzung des N im Stalldünger betrug wie bei früheren Versuchen nur 25 Proz.

Vogel (Leipzig).



## Neue Literatur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Oberbibliothekar der Kgl. Bibliothek in Berlin.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente usw.

- Hecker, F.**, A new model of double pipet holder and the technic for the isolation of living organisms. (Journ. of infect. Dis. Vol. 19. 1916. No. 3. p. 306—314. 6 Fig.)  
**Lux, Fritz**, Ein neues Färbegestell für bakteriologische Präparate. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 32. 1916. H. 4. p. 401—402. 1 Fig.)  
**Schouten, S. L.**, Mikrobiologisch-technische Notizen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. H. 6. p. 474—480. 6 Fig.)

### Systematik, Morphologie.

- Bubák, Fr.**, Ein Beitrag zur Pilzflora von Galizien und Rußland. (Hedwigia. Bd. 57. 1916. H. 6. p. 329—343. 1 Fig.)  
**Diedicke, H.**, Beschreibungen einiger neuer Fungi imperfecti der Philippinen. (Ann. Mycol. Jg. 14. 1916. No. 1/2. p. 62—64.)  
**Dietel, P.**, Über die systematische Stellung von Uredo alpestris Schröt. (Ann. Mycol. Jg. 14. 1916. No. 1/2. p. 98—99.)  
**v. Höhnelt, Franz**, Fragmente zur Mykologie. (18. Mitt. No. 944—1000.) Wien (Hölder) 1916. 112 p. 8°. 2,75 M.  
**Jaap, Otto**, Beiträge zur Kenntnis der Pilze Dalmatiens. (Ann. Mycol. Jg. 14. 1916. No. 1/2. p. 1—44.)  
**Przemysky**, Sur la coloration vitale du noyau. (Compt. rend. Soc. biol. T. 78. 1915. p. 63—66.)  
**Reitz**, Vitalfärbung von Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 65. 1916. No. 7/8. p. 145—164.)  
**Sydow, H. et P.**, Fungi amazonici a cl. E. Ule lecti. (Ann. Mycol. Jg. 14. 1916. No. 1/2. p. 65—97. 5 Fig.)  
**Zahlbruckner, A.**, Neue Flechten. 8. (Ann. Mycol. Jg. 14. 1916. No. 1/2. p. 45—61.)

### Biologie.

- Bertrand, Gabriel et Sazerac, Robert**, Sur l'action favorable exercée par le manganèse sur la fermentation acétique. (Ann. de l'Inst. Pasteur. Année 29. 1915. No. 4. p. 178—181.)  
**Bokorny, Th.**, Beobachtungen über Hefe. [Zumeist Brauereihefe aus München.] (Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. Bd. 164. 1916. H. 4/6. p. 203—273.)  
**Duchacek, F.**, Sur une prétendue variation biochimique du ferment bulgare. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 29. 1915. No. 6. p. 288—305; No. 7. p. 347—356.)  
**Fischer, Herm.**, Über die Leistungsfähigkeit luftstickstoffsammelnder Bakterien für die Land- und Teichwirtschaft. (Fühlings landw. Ztg. 1916. Bd. 65. H. 17/18. S. 393—407.)  
**Galippe, V.**, Die biologische Bedeutung des Schmarotzertums der Pflanzensamen. (Compt. Rendus de l'Acad. d. Scienc. Bd. 161. No. 54. p. 112—115. Paris 1915, 2. August; ref. in: Int. agr.-techn. Rundschau. Berlin (Parey) 1915. H. 10. p. 1410.)  
**Guilliermond, A.**, Sur un exemple de copulation hétérogamique observé dans une nouvelle levure: Zygosaccharomyces Nadsonii. (Compt. rend. soc. biol. T. 78. 1915. p. 568—570. 1 Fig.)  
**Hudson, C. S.**, Die Inversion des Rohrzuckers durch Invertase. Tl. 8. Eine erprobte Methode zur Herstellung konzentrierter Invertaselösungen aus Ober- oder Unterhefe. (Journ. American chem. Soc. Vol. 36. p. 1566—1571; ref. in Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabr. Jg. 44. 1916. No. 37. p. 313—314.)  
**Ickert, Franz**, Über die Bakterien im Schwimmbadewasser (Schluß). (Öff. Gesundheitspflege. Jg. 1. 1916. H. 9. p. 521—528.)  
**Lindner, P.**, Zur Kenntnis der Mikrobenflora der zuckerhaltigen Saftflüsse. I. Der Milchfluß der Bäume. (Die Deutsche Essigsindustrie. 1916. No. 36. p. 254—259; No. 37. p. 263—266. Mit 38 Abb.)  
**Melhus, J. E.**, Untersuchung über die Keimung von Phytophthora infestans in den Kartoffeln. (Ref. in Int. agr.-techn. Rundschau. 1916. Bd. 7. H. 2. p. 183—184.)

- Meyerhof, Otto**, Untersuchungen über den Atmungsvorgang nitrifizierender Bakterien. 1. Die Atmung des Nitratbildners. (Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. Bd. 164. 1916. H. 7/9. p. 353—427. 11 Fig.)
- Pellet, H.**, Sur la destruction totale des pentoses au cours de la fermentation alcoolique. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 163. 1916. No. 11. p. 274—276.)
- Richet, Charles**, Adaptation des microbes (ferment lactique) au milieu. (Ann. de l'Inst. Pasteur. Année 29. 1915. No. 1. p. 22—54.)
- Rörig, G. u. E. Knoche**, Beiträge zur Biologie der Feldmäuse. (Arb. a. d. Kais. Biol. Anst. f. Land- u. Forstw. 1916. Bd. 9. H. 3. p. 333—414. Mit 4 Textabb.)
- Sasserac, R.**, Les microbes oxydants des alcools et des sucres. (Bull. de l'Inst. Pasteur. T. 13. 1915. p. 162—173.)
- Zikes, H.**, Erwiderung auf die Arbeit „Die Bindung des elementaren Stickstoffes durch Saccharomyceten (Hefen) und Schimmelpilze von A. Kossowicz“. (Ztschr. f. Gärungsphysiol. Bd. 5. p. 26; Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 44. 1916. No. 37. p. 311—312.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

#### Luft, Wasser, Boden.

- Mandoul, A. et Gruat, E.**, Contribution à l'étude bactériologique des eaux; les bacilles coliformes. (Ann. de l'Inst. Pasteur. Année 29. 1915. No. 9. p. 459—475.)
- Sorger**, Chemische Wasserreinigungsmethoden für den Gebrauch im Felde und ihre Prüfung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 81. 1916. H. 3. p. 379—386.)

#### Milch, Milchbereitung.

- Amberger, Konrad**, Ein einfaches Verfahren zum Nachweise von Talg und gehärteten Fetten im Butterfett. (Ztschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel. Jg. 31. 1916. No. 10. p. 297—308.)
- Barthel, Ch.**, Über Dauerpasteurisieren von Milch. (Ref. von J. Sebelien in: Biedermanns Centralbl. f. Agrikulturchemie. 1916. H. 6. p. 280—282.)
- Bartholow, Paul**, Condensed milk. Some aspects of the product from the latest reports. (New York med. Journ. Vol. 101. 1915. No. 8. p. 355—359.)
- Brodrick-Pittard, N. A.**, Zur Frage des Nachweises von Ziegenmilch in Kuhmilch. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Jg. 29. 1915. H. 5. p. 642—648.)
- Burri, Rob. u. Staub, W.**, Zur Kenntnis der in reifem Emmentalerkäse vorherrschenden Bakterien. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1915. Jg. 29. H. 5. p. 626—641.)
- Evans, Alice C.**, The bacteria of milk freshly drawn from normal udders. (Journ. of infect. dis. Vol. 18. 1916. No. 5. p. 437—476.)
- Fleischmann**, Die Bereitung von Backsteinkäsen. Eine Sonderschrift. 3. umgearb. Aufl. Berlin (Parey) 1916. VIII, 100 p. 8°. 2,25 M.
- Junggeburth, Karl**, Über die Kombination verschiedenster Untersuchungsmethoden zur hygienischen Beurteilung der Milch im besonderen der Düsseldorfer Marktmilch. [Diss. med.] Gießen. 1916. 8°.
- Koestler, G.**, Einheitliche Milchprüfungskontrollen in der Schweiz. (Milchwirtschaftl. Centralbl. 1916. Bd. 45. H. 12. p. 190—192.)
- Kroon, H. M., van Heelsbergen, T. en Baudet, E. A. R. F.**, De melkbiorisator van Lobeck. (Tft. vergelijkende geneesk. Dl. 2. 1916/17. p. 32—61.)
- Kürsteiner, J.**, Eine bemerkenswerte Beobachtung bei der Anwendung der Gärreduktaseprobe im praktischen Käseerbetrieb. (Molkerei-Ztg. Berlin. 1916. No. 21. p. 162; No. 22. p. 169.)
- Mogendorff, S. I. M.**, De contrôle op de „pasteurisatie“ van afgeroomde melk, karnemelk en wei, in verband met het K. B. van 16 December 1915 [Stbl. no. 510]. (Tft. diergeneesk. Dl. 43. 1916. p. 223—243.)
- Mohs, Karl**, Zur Bestimmung des Fettgehaltes der Trockenvollmilch. (Ztschr. f. d. ges. Getreidewesen. 1916. No. 3. p. 37—41.)
- Rosengren, L. Fr.**, Untersuchung über die Verhältnisse, die auf den Wassergehalt der Butter bei Anwendung von sog. Butterfertigern einwirken. (Milchwirtschaftl. Centralbl. 1916. Bd. 45. H. 11. p. 161—171; H. 12. p. 179—180.)
- Winkler**, Konservierung der Versandmilch mit Wasserstoffsuperoxyd. (Österr. Molkerei-Ztg. 1916. No. 10. p. 99—100.)

## Wein, Weinbereitung.

- Meißner, Richard**, Notwendigkeit der Anwendung von Reihefe bei der Vergärung der 1916er Traubenmoste und Maischen. (Der Weinbau. Jg. 15. 1916. No. 9. p. 96—97.)
- Müller-Thurgau, H. u. A. Osterwalder**, Einfluß teilweiser Entsäuerung und der Temperatur auf den Säureabbau des Weines. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1915. Jg. 29. H. 4. p. 391—399.)
- —, Azetaldehydbildung in Obstfrüchten. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1915. Jg. 29. H. 4. p. 400—407.)
- —, Aldehydbildung im Wein während und nach der Gärung. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1915. Jg. 29. H. 4. p. 408—420.)
- —, Verhinderung der alkoholischen Gärung in Obst- und Traubensäften durch schweflige Säure. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1915. Jg. 29. H. 4. p. 421—432.)

## Bier, Bierbereitung.

- Baar, Adele**, Erfahrungen aus der Hefereinzuchtpraxis von H. Schnegg. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 44. 1916. No. 42. p. 351—354.)
- Windisch, Karl**, Kriegsbier. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 33. 1916. No. 37.; No. 38.)

## Fleisch.

- Kossowicz, Alexander u. Nassau, Robert**, Beiträge zur Bakteriologie und Technologie der Fleischkonservenfabrikation. 2. Mitt. (Wiener tierärztl. Monatsschr. Jg. 3. 1916. H. 6. p. 225—240.)
- Plank, R., Ehrenbaum, E. u. Reuter, Karl**, Die Konservierung von Fischen durch das Gefrierverfahren. 1. Vergleichende Untersuchung verschiedener Gefrierverfahren. 2. Über die histologischen und geschmacksphysiologischen Veränderungen gefrorener Fische. Berlin (Zentral-Einkaufsges.) 1916. 248 p. 8°. 55 Fig. (Abh. z. Volksernährung. H. 5.) 3,50 M.
- Plank, Rudolf u. Kallert, Eduard**, Über die Behandlung und Verarbeitung von gefrorenem Rindfleisch. Im Auftrage der Zentral-Einkaufs-Gesellschaft ausgeführte Untersuchungen. Berlin (Zentral-Einkaufsgesellsch.) 1916. 94 p. 8°. 9 Fig. (Abh. z. Volksernährung. H. 6.) 2,— M.
- Schuck, Anton**, Über die desinfizierende Wirkung der Hackfleischpräservesalze. [Diss. med.] Gießen 1916. 8°.

## Andere Nahrungsmittel.

- Hutchinson, C. M. u. N. V. Joshi**, Die Fäulnis der eingelagerten Kartoffeln. (Mem. of the Departm. of Agricult. in India, Bacteriol. Ser. Bd. 1. No. 5. p. 113—135. Kalkutta 1915. Tafel I—V; Ref. in: Internat. Agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 1. p. 85.)
- Kämmerer, F.**, Ursachen geringer Haltbarkeit der Kartoffeln und ihre verschiedenen Aufbewahrungsmöglichkeiten. (Westpreuß. landw. Mitt. 1916. No. 38. p. 180.)
- Kossowicz, Alexander**, Die Bakterizidie des Eiereiweißes. (Wiener tierärztl. Monatsschr. Jg. 3. 1916. H. 9. p. 390—393.)
- Postolka, August**, Das Vogelei und dessen marktpolizeiliche Untersuchung und Beurteilung [Schluß]. (Wiener tierärztl. Monatsschr. Jg. 3. 1916. H. 9. p. 369—389.)
- Schneider, J.**, Über das Verderben der Gemüsekonserven des Haushaltes. (Der Lehrmeister im Garten u. Kleintierhof. 1916. No. 26. p. 253—254. Mit Orig.-Abb.)
- Völitz, W. u. Jantzon, H.**, Die Konservierung der Futterrüben und der Rübenblätter durch wilde Säuerung und durch Reinkultursäuerung. (Landw. Jahrb. 1916. Bd. 49. H. 5. p. 797—809.)
- Wollenweber, H. W.**, Die Bedeutung der Temperatur für unsere Kartoffelvorräte. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1916. No. 35. p. 345.)

## Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion usw.

- Krüger, Hans**, Der neue Universal-Desinfektor ohne Vakuum. (Gesundheits-Ingenieur. Jg. 39. 1916. No. 20. No. 27. p. 297—300. 8 Fig.)
- Lange, Heinrich**, Über Desinfektion mit trockener Heißluft. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 82. 1916. H. 2. p. 327—350.)
- Morgenroth, J. u. Tugendreich, J.**, Die Desinfektionswirkung von Chinaalkaloiden auf Streptokokken. (Berlin. klin. Wochenschr. Jg. 53. 1916. No. 29. p. 794—796.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

## Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Bodnar, J.**, Biochemische Untersuchungen über die Rübenschwanzfäule. (Kisérletügyi Közlemények. Bd. 18. H. 1. p. 73—83; Ref. in: Int.-agr.-techn. Rundschau. Budapest 1915. 1916. H. 2. p. 180.)
- Brooks, F. E. u. Blakeslee, E. B.**, Forschungen über den Apfelwickler im Zentralgebiet der Apalachen. (United States Departm. of Agricult. Bull. No. 189. 49 p. 23 Abb., 1 Tafel. Washington, D. C., 1915. Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 1. p. 95—97.)
- Brunner, J.**, Pinipestis zimmermani, ein den Kiefern in den Vereinigten Staaten schädlicher Schmetterling. (U. S. Departm. of Agricult. Bull. No. 295. p. 1—11. Tafel I—XI. Washington 1915; Ref. in: Int. agr.-techn. Rundschau 1916. H. 2. p. 192.)
- Hedgcock, G. G.**, Das Schmarotzertum der Comandra umbellata. (Journ. of Agric. Research. 1915. Bd. 5. No. 3. p. 133—135; ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 1. p. 87.)
- Hiltner, L. u. Korff**, Das vermehrte Auftreten des Amerikanischen Stachelbeermehltaus im Sommer 1916. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau- u. -schutz. 1916. H. 6/7. p. 73—76.)
- Jablonowski, J.**, Phlyctaenodes sticticalis, ein den Kulturpflanzen in Ungarn schädlicher Kleinschmetterling. (Köztelek. Jg. 25. No. 32. p. 1157—1160. Budapest 1915; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 1. p. 97—98.)
- Kadocsa, G.**, Crioceris melanops (Lema melanopus), ein Schädling des Hafers und der Gerste in Ungarn. (Kisérletügyi Közlemények. Bd. 18. H. 1. p. 108—176. Budapest 1915. Tafel I—VIII; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 2. p. 188—189.)
- Kemner, N. A.**, Eurydema oleracea, ein mehreren Kulturpflanzen Schwedens schädlicher Halbflügler. (Meddelande från Centralanstalten för försöksväsendet på Jordbruksområdet, Entomologiska Avdelningen. No. 23. p. 1—14. Stockholm 1915. Abb. 1—5; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 2. p. 190.)
- Leeuwen, W. Docters van, u. Docters van Leeuwen-Reijnvaan, J.**, Niederländisch-ostindische Gallen. (Bull. jardin botan. Buitenzorg. série 2. No. 21. 1916. p. 3—45. Mit Fig.)
- Melhus, J. E.**, Die Überwinterung von Phytophthora infestans in den Kartoffeln. (Journ. of Agricult. Research. Bd. 5. No. 2. p. 71—102. Abb. 1—3, Tafel IV—VIII. Washington, D. C., 1915; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 1. p. 84.)
- , Über das Überwinterungsmycel der Peronosporaceen. (Journ. of Agric. Research. 1915. Bd. 5. No. 2. p. 59—71. Abb. 1, Taf. II; Ref.: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 1. p. 84.)
- Miege, Em.**, Eine neue Rübenkrankheit in Nordfrankreich. (La Vie agricole et rurale. Jg. 5. No. 19. p. 341. Paris 1915. 1 Abb.; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 1. p. 83—84.)
- Muth, Fr.**, Die Milbensucht der Reben, verursacht durch die Eriophyes vitis Nal., eine neue und gefährliche Krankheit unserer Weinberge, nebst einigen Bemerkungen über ähnliche Triebverunstaltungen. (Hessische landw. Ztschr. 1916. No. 34. p. 442; No. 35. p. 458. Mit Abb.)
- O'Gara, P. J.**, Eine neue Bakterienkrankheit auf Agropyron Shmithii (Western Wheat-Grass) in Amerika. (Science. Neue Folge. Bd. 42. No. 1087. p. 611—617. Lancaster, Pa., 1915; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 2. p. 181.)
- Osterwalder, A.**, Über eine Pilzkrankheit der Fruchttriebe des Himbeerstrauchs in der Schweiz. (Schweiz. Obst- u. Gartenbau-Ztg. No. 20. p. 278—279. Münsingen 1915. 1 Abb.; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 2. p. 184.)
- Quanjér, H. M., H. A. A. van der Lek en Oortwijn Botjes, J.**, Aard, verspreidingswijze en bestrijding van phloeomnecrose (bladrol) en verwante ziekten (o. a. sereh). (Med. rijks hogere land-, tuin- en boschbouwschool, dl. 10. 1916. p. 1—162; geill.)
- Ravaz, L. u. Verge, G.**, Untersuchungen über die Blattfallkrankheit der Weinrebe. (Annales de l'Ecole Nationale d'Agricult. de Montpellier. Neue Folge. Bd. 14. H. 3. p. 169—199. Montpellier 1915. Abb. 1—18; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 2. p. 185.)
- Reichert, A.**, Pflanzenschädliche Wanzen. (Der Lehrmeister im Garten- u. Kleintierhof. 1916. No. 37. p. 353—354. Mit Orig.-Abb.)
- Rhijn, G. B. C. van**, Gallen en hunne bewoners. (Levende natuur. Jg. 21. 1916—1917. p. 34—38; geill.)
- Schellenberg, H. C.**, Ein neuer Brandpilz auf Arrhenatherum elatius. (Berichte d. deutsch. Botan. Gesellsch. Jg. 33. Bd. 33. H. 7. p. 316—323. Berlin 1915; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 2. p. 182.)

- Schultz, Eugene S.**, Silver-Scurf of the Irish Potato Caused by *Sponylocidium atrovirens*. (Journal of agric. Research. Washington 1916. Vol. 6. No. 10. p. 339—351. Mit 3 Taf.)
- Seinter**, Der Kiefernschädling *Bombyx pini* in Österreich. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. 1915. Jg. 41. No. 4/5. p. 161—173; ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 1. p. 98—100.)
- Siegler, E. H. u. Simanton, F. L.**, Der Entwicklungsgang des Apfelwicklers (*Carpocapsa pomonella*) im Staate Maine [Vereinigte Staaten von Nordamerika]. (U. S. Departm. of Agricult. Bull. No. 252. 50 p. 9 Abb., 2 Taf. Washington, D. C., 1915. Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 1. p. 94/95.)
- Tullgren, Alb.**, Schädliche Hyponomeuta-Arten auf *Lonicera* und *Prunus* in Schweden. (Meddelande från Centralanstalten för försöksväsendet på Jordbruksområdet, Entomologiska Avdelningen. No. 21. p. 1—23. Stockholm 1915. Abb. 1—16; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 2. p. 191.)
- Voges, Ernst**, Über eine Erkrankung der Buschbohnen infolge Nässe. (Deutsche landw. Presse. 1916. No. 76. p. 617.)
- Westerdijk, Johanna**, Aardappelziekte in Nederlandsch Oost-Indië. (Teysmannia. Jg. 27. p. 1—15; M. Fig.)
- Witte, H.**, *Apamea testacea*, ein den Futtergräsern in Schweden und Dänemark schädlicher Schmetterling. (Sveriges Utsädesförenings Tidskrift. Jg. 25. H. 5. p. 249—251. Malmö 1915. Abb. 1—4; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 2. p. 189.)

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

### Pflanzenschutz.

- Clerk, Florence L.**, Ein Frostschutzverfahren für Pfirsichbäume. (The Country Gentleman. Bd. 80. No. 43. p. 1607. Philadelphia 1915, 23. Oktober. 2 Abb.; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 2. p. 137—138.)
- Der Frostschutz der Obst- und Gemüsegärten in den Vereinigten Staaten. I. **Humphreys, W. J.**, Frost Protection (U. S. Departm. of Agricult. Weather Bureau, Monthly Weather Review. Bd. 42. No. 10. Oktober 1914. p. 562—569. Washington 1915, 6. Februar. 1 Abb.) — II. **Carpenter, Ford A.**, Utilization of frost warnings in the citrus region near Los Angeles, Cal. (Ibid. p. 569—571. 23 Abb.) — III. **Smith, J. Warren**, Frost warnings and orchard heating in Ohio. (Ibid. p. 573—582. 15 Abb. u. 9 Taf.) — IV. **Marvin, Charles F.**, Air drainage explained. (Ibid. p. 583—585.) — V. **Von Hermann, Charles F.**, Protection against frost in Georgia. (Ibid. p. 585—586.) — VI. **Thiessen, Alfred H.**, Protection from frost in Utah. (Ibid. p. 586—587.) — VII. **Voothees, F. F.**, Notes on frost protection in the vicinity of Knoxville, Tenn. (Ibid. p. 587.) — VIII. **Beals, Edward A.**, Frost forecasts and protection in Oregon, Washington und Idaho. (Ibid. p. 587.) — IX. **Mitchell, Alexander J.**, Frost and frost protection in Florida. (Ibid. p. 588—589.) — X. **Briggs, Robert R.**, Frost protection in Arizona. (Ibid. p. 589—590.) — XI. **Sprague, Malcolm**, Frosts and frost protection in Texas. (Ibid. p. 590.) — XII. **Cline, Joseph L.**, Frost protection by irrigation in southern Texas. (Ibid. p. 591—592.) Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 1. p. 14—20.
- Hiltner, L.**, Über die Beizung des Wintergetreidesaatgutes. (Illustr. landw. Ztg. 1916. No. 77. p. 519—520.)
- , Forderung von Maßnahmen gegen die Weiterverbreitung des Kleeteufels [*Orobancha minor*]. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. -schutz. 1916. H. 6/7. p. 76—79.)
- , Über die Beizung des Roggens mit Fusariol gegen schlechtes Auflaufen und gegen Auswinterung. (Mitt. d. Deutschen Landw.-Gesellsch. 1916. No. 35. p. 586—590.)
- , Über die Beizung des Weizens gegen *Fusarium* und Steinbrand. (Mitt. d. Deutschen Landw.-Gesellsch. 1916. No. 38. p. 632—633.)
- Kornauth, A. u. Wöber, A.**, Vergleichende Versuche mit einigen Spritzmitteln gegen die Blattfallkrankheit (*Peronospora viticola* D. By.) des Weinstockes, durchgeführt im Jahre 1915. (Mitt. d. K. K. landwirtsch.-bakteriol. u. Pflanzenschutzstation in Wien. 1915. 15 p. 8°.)
- Morettini, A.**, Die Verwendung der Schwefelsäure zur Bekämpfung der Getreideunkräuter. (Le Stazioni Sperimentali Agrarie Italiane. Bd. 48. H. 10—11. p. 693—716. Modena 1915; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 1. p. 90—92.)
- , Die Verwendung der Schwefelsäure zur Bekämpfung der Getreideunkräuter. (Le Stazioni Sperimentali Agr. Italiane. 1915. Bd. 48. H. 10/11. p. 693—716; ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 1. p. 90—92.)

- Müller, H. T. u. Mols, E.**, Versuche zur Bekämpfung des Rübennekrotiden *Heterodera* Schachtii. (Blatt. f. Zuckerrübenbau. 1916. No. 16. p. 186—188.)
- Sieard, L.**, Untersuchungen über die Zusammensetzung und Herstellung der Kupferkalkbrühe. (Annales de l'Ecole Nationale d'Agricult. de Montpellier. Neue Folge. Bd. 14. H. 3. p. 213—253. Montpellier 1915; Ref. in: Internat. agr.-techn. Rundschau. 1916. H. 2. p. 180.)
- Stehlik, W.**, Einige neue Erfahrungen über die Vertilgung der Drahtwürmer. (Blatt. f. Zuckerrübenbau. 1916. No. 14. p. 165—167.)
- Verwendung von Ersatzmitteln für Kupfervitriol zur Saatgutbeizung. (Wiener landw. Ztg. 1916. No. 64. p. 424.)
- Wahl, Bruno**, Bekämpfung der Erdraupen. (Wiener landw. Ztg. 1916. No. 63. p. 416—417. Mit 2 Fig.)

## Inhalt.

## Zusammenfassende Übersichten.

- Fulmek, Leopold, und Stift, A.**, Über im Jahre 1915 erschienene bemerkenswerte Mitteilungen auf dem Gebiete der tierischen und pflanzlichen Feinde der Kartoffelpflanze, p. 545.

## Referate.

- Allen, E. R., and Bonazzi, A.**, On nitrification. Preliminary observations, p. 630.
- Alten, Hermann von**, Hydrobiologische Studien über Flüsse mit Kaliabwässern, p. 627.
- , Hydrobiologische Studien über die Wirkung von Abwässern auf die Lebewelt unserer Gewässer. II., p. 619.
- , Hydrobiologische Studien über die Wirkung von Abwässern auf die Organismen unserer Gewässer. III., p. 620.
- Arnd, Th.**, Über schädliche Stickstoffumsetzungen in Hochmoorböden als Folge der Wirkung starker Kalkgaben, p. 643.
- Ayers, S. Henry, and Johnson, W. T. jr.**, Ability of Colon Bacilli to Survive Pasteurization, p. 592.
- Beijerinck, M. W.**, Über das Nitratferment und über physiologische Artbildung, p. 633.
- Birge, E. G.**, The action of certain bacteria on the nitrogenous material of sewage, p. 621.
- Bornebusch, C. H.**, Studien über die Lebensanforderungen der Schwarzerle (*Alnus glutinosa* L.) Gärten und ihr Auftreten in Dänemark. [Dänisch], p. 640.
- Bosley, Thomas J., and Sandman, Edgar A.**, A comparison between the twenty degree and the thirty-seven degree plate counts for enumerating bacteria in water, p. 608.
- Bottomley, W. B.**, A bacterial test for plant food accessories (auximones), p. 645.
- Browne, William W.**, Predominance among the members of the *Bacillus*

*coli* group in artificially stored water, p. 611.

- Buddin, W.**, Note on the increased nitrate content of a soil subjected to a temporary drying in the laboratory, p. 629.
- Burri, R.**, Aus dem Leben der Käsebakterien, p. 605.
- u. **Hohl, J.**, Einfluß des Melkens mit der Melkmaschine „Omega“ auf die bakteriologische Beschaffenheit der Milch, p. 594.
- u. **Staub, W.**, Zur Kenntnis der in reifem Emmentalerkäse vorherrschenden Bakterien, p. 606.
- Dalla Torre, G.**, Inquinamento del latte colle feci animali, p. 602.
- Damm, O.**, Die Pflanze und der Stickstoff der atmosphärischen Luft, p. 641.
- De Vogt, G.**, Untersuchungen über die bakterizide Wirkung der ultravioletten Strahlen, p. 615.
- Ditthorn, Fr.**, Beitrag zur Trinkwassersterilisierung mit Chlor, p. 616.
- Doane, C. F., and Eldredge, E. E.**, The Use of *Bacillus bulgaricus* in Starters for Making Swiss or Emmental Cheese, p. 597.
- Düggeli, M.**, Harnstoffzersetzende und salpeterbildende Spaltpilze, p. 641.
- Dunbar, W. P.**, Neue Methoden zur Abwasserreinigung. Die Abwasserbehandlung der Stadt Straßburg i. E., p. 625.
- Emmerling, O.**, Praktikum der chemischen, biologischen und bakteriologischen Wasseruntersuchung, p. 608.
- Fehlmann, Werner**, Die Wirkung der Limmatverunreinigung auf die Flora und Fauna der Limmat, p. 620.
- Ford, W. W., and Pryor, J. C.**, Observations upon the bacteria found in milk heated to various temperatures, p. 591.
- Fremlin, H. S.**, Further observations on nitroso-bacteria, p. 636.
- Gothe, F.**, Über das Rheinsche Verfahren zur Trinkwassersterilisation im Felde, p. 612.

- Gratz, O., u. Vas, K.**, Die Bedeutung der Bakterien bei der Käse- reifung und der scharfe Geschmack des ungarischen Brinsenkäses, p. 604.
- , —, Über einige neue Bakterienarten im Brinsenkäse, p. 604.
- Hammer, B. W.**, Bacteriological studies on the coagulation of evaporated milk, p. 595.
- , Bacteriological studies on two yellow milk organisms, p. 598.
- , Pasteurization of cream for butter making, p. 602.
- , and **Hauser, A. J.**, The Pasteurization of Milk in the final Package, p. 591.
- Harrison, W. H., and Aiyer, P. A. S.**, The gases of swamp rice soils. II. Their utilization for the aeration of the roots of the crop, p. 629.
- Heinemann, P. G.**, Relation of the number of *Streptococcus lacticus* to the amount of acid formed in milk and cream, p. 598.
- , The germicidal effect of lactic acid in milk, p. 596.
- , The variability of two strains of *Streptococcus lacticus*, p. 599.
- Heinze, B.**, Über den günstigen Einfluß einer vermehrten Kalkzufuhr auf die gesamten Organismen, p. 646.
- Hiltner, Der Hederich und der Ackersenf als Stickstoffschafter**, p. 640.
- Hofer**, Versuche über die Vermehrung von stickstoffsammelnden Bakterien im Wasser, p. 632.
- Holterbach, H.**, Die erfolgreiche Bekämpfung der Streptokokken-Mastitis, p. 600.
- Huntemüller**, Wasserversorgung und Kanalisation im alten und heutigen Jerusalem, p. 609.
- Ischöfer, H.**, Die Verunreinigung der Isar durch die Münchener Kanalwässer, p. 623.
- Jötten, K. W.**, Selbstbereitung von einwandfreiem Trinkwasser im Felde, p. 612.
- Jone, H.**, An easy test for bacteria in milk and cream, p. 592.
- Joshi, N. V.**, A new nitrite forming organism, p. 637.
- Kappen**, Düngungsversuch mit Umwandlungsprodukten des Kalkstickstoffs, p. 646.
- Kellerman, K. F., and Smith, N. R.**, Bacterial precipitation of calcium carbonate, p. 645.
- Kelley, W. P.**, Ammonification and nitrification in Hawaiian soils, p. 631.
- Kiester, William S.**, Note on the antagonism between the lactic-acid and the spore-bearing organisms in milk, p. 596.
- Klein, M. A.**, Studies in the drying of soils, p. 629.
- Klut, Hartwig**, Die Reinigung gewerblicher Abwässer, p. 621.
- Köhlisch**, Über die Bedeutung der Milch für die Verbreitung der Tuberkulose, p. 600.
- Krieger, Rudolf**, Beiträge zur Kenntnis der Artfrage der Knöllchenbakterien einiger Leguminosen, p. 637.
- Krüger, W., u. Roemer, H.**, Versuche über die Wirkung verschiedener Stickstoffdünger unter Berücksichtigung der Jauche und der Luftstickstoffpräparate, p. 644.
- Kühl, H.**, Trockenmilchpräparate als Liebesgaben, p. 602.
- Kürsteiner, J.**, Vergleichende praktische Käseversuche auf exakter Grundlage, p. 605.
- , Wie ist die Käse- reikultur entstanden, wie wird sie hergestellt und wie lauten die Erfahrungen der Praxis im Jahre 1915?, p. 603.
- Kyropoulos, S.**, Über die Festlegung von Kali durch Bodenbakterien, p. 645.
- Lavanchy, C. J.**, Contribution à l'étude de la flore bactérienne du Lac de Genève, p. 610.
- Lipman, C. B.**, Antagonism between anions as related to nitrogen transformation in soils, p. 630.
- , The nitrogen problem in acid soils, p. 631.
- , and **Burgess, P. S.**, The protective action against  $MgCO_3$  of  $CaCO_3$  for *Azotobacter chroococcum*, p. 634.
- , and **Fowler, L. W.**, Isolation of *Bacillus radicicola* from soil, p. 638.
- , and **Sharp, L. T.**, Effect of moisture content of a sandy soil on its nitrogen fixing power, p. 632.
- Löhnis, F.**, Über das Biorisatorverfahren und die Enzymamilch, p. 596.
- Mazé, P.**, Oxydation de l'ammoniaque ou nitrification par les végétaux, p. 632.
- Messerschmidt, Th.**, Über die Wirkungsweise von biologischen Abwässerreinigungskörpern, p. 626.
- Meurer, R.**, Über das Biorisatorverfahren und die Leipziger Enzymamilch, p. 597.
- Molér, Thjelvar**, Ein Beitrag zur Kenntnis der Entbindung des durch *Azotobacter fixierten* Stickstoffes, p. 635.
- Molliard, M.**, L'azote libre et les plantes supérieures, p. 637.
- Morres, W.**, Beschleunigung der Käse- reifung durch alkalische Zusätze, p. 603.
- Mulvania, M.**, Observations on *Azotobacter*, p. 635.
- Némec, B.**, Über die Bakterienknöllchen bei Serradella. [Tschechisch], p. 639.
- North, Charles E.**, The dairyman versus the dairy, p. 594.
- Olaru, D.**, Action favorable du man-

- ganèse sur la bactérie des légumineuses, p. 638.
- Pryor, J. C.**, On the presence of spore-bearing bacteria in Washington market milk, p. 596.
- Rahe, Alfred H.**, A Study of the so-called Inplantation of *Bacillus Bulgaricus*, p. 597.
- Repassy, Mikl.**, Reinigung der Abwässer durch Fischteiche, p. 627.
- Rettger, Leo F.**, **Kirkpatrick, William F.**, and **Card, Leslie**, Milk Feeding and its Influence on the Growth and Mortality. Comparative Study of the Value of sweet and sour Milk, p. 595.
- Rohland, P.**, Die Klärung, Reinigung und Desinfektion der städtischen und Fabrikabwässer, p. 622.
- Rosenow, E. C.**, and **Moon, V. H.**, On an epidemic of sore throat and the virulence of streptococci isolated from the milk, p. 599.
- Russell, E. J.**, and **Appleyard, A.**, The atmosphere of the soil: its composition and the causes of variation, p. 628.
- Ruys, J. D.**, Ein betriebssicheres Verfahren zur Behandlung von Wasser für Trinkzwecke mit Hypochloriten, p. 617.
- Sackett, W. G.**, and **Isham, R. M.**, The origin of the „niter spots“ in certain western soils, p. 643.
- Schmitz, K. E. F.**, Über die Leistungsfähigkeit des Lobeckschen Milchsterilisierungsverfahrens, p. 588.
- Schmoeger, M.**, Eine neue Methode der Jauchekonservierung, p. 646.
- Schütz, Fr.**, Die Reinigung von Flußwasser mit Ozon, p. 618.
- Sherman, J. M.**, and **Hastings, E. G.**, The Presence of Streptococci in the Milk of normal Animals, p. 599.
- Shippen, L. P.**, Common organisms in heated milk; their relation to its reactions, p. 592.
- Shive, J. W.**, and **Livingston, B. E.**, The relation of atmospheric evaporating power to soil moisture content at permanent wilting in plants, p. 628.
- Simon, Natürliche** Impferde oder künstliche Bakterienkulturen zur Hülsenfruchtimpfung?, p. 638.
- Spratt, E. R.**, The root nodules of the Cycadaceae, p. 639.
- Stewart, G. R.**, Availability of the nitrogen in Pacific coast kelps, p. 637.
- Thom, Charles**, The Salt Factor in the mold ripened Cheeses, p. 603.
- , and **Matheson, K. J.**, Biology of Roquefort Cheese, p. 607.
- Troussoff, A.**, Die Humusbildung aus Bestandteilen des Pflanzenorganismus, p. 643.
- Vogel, J.**, Einige Versuche mit Jauche, p. 647.
- Voorhees, J. H.**, Variations in soy bean inoculation, p. 639.
- Wagner, Paul**, Darmstädter Stallmistversuche, p. 647.
- Walton, J. H.**, Azotobacter and nitrogen fixation in Indian soils, p. 635.
- Weichhardt, W.**, u. **Wolff, M.**, Über einige handliche chemische Verfahren, kleine Mengen Trinkwasser zu entkeimen, p. 613.
- Weir, W.**, The effect of removing the soluble humus from a soil on its productiveness, p. 643.
- Weis, F.**, og **Bornebusch, C. H.**, Über das Vorkommen des Azotobacter in dänischen Waldböden, sowie über Bedeutung der Azotobacterprobe für die Bestimmung des Kalkbedürfnisses der Waldböden. [Dänisch], p. 634.
- Whiting, A. L.**, A biochemical study of nitrogen in certain legumes, p. 638.
- Wilhelmi, Julius**, Kompendium der biologischen Beurteilung des Wassers, p. 609.
- Wolff, A.**, Die Milchhygiene auf dem VI. internationalen Kongreß für Milchwirtschaft in Bern, p. 593.
- Zilva, S. S.**, The rate of inactivation by heat of peroxida sein milk. I., p. 597.

Neue Literatur, p. 648.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung **Gustav Fischer** in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 17. Januar 1917.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.



# Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 47. No. 26.

Ausgegeben am 8. Oktober 1917.

## Inhaltsverzeichnis.

### I. Verzeichnis der in Band 47 enthaltenen Arbeiten.

- Aiyer, P. A. S. s. Harrison, W. H.**  
**Allen, E. R. and Bonazzi, A.,** On nitrification, Preliminary observations. 630  
**Alten, Hermann von,** Hydrobiologische Studien über Flüsse mit Kaliabwässern. 627  
—, Hydrobiologische Studien über die Wirkung von Abwässern auf die Lebenswelt unserer Gewässer. II. Mitt. 619  
—, Hydrobiologische Studien über die Wirkung von Abwässern auf die Organismen unserer Gewässer. III. 620  
**Appleyard, A. s. Russell, E. J.**  
**Archer, R. T.,** Milking machines in Victoria. 541  
**Arnd, Th.,** Über schädliche Stickstoffumsetzungen in Hochmoorböden als Folge der Wirkung starker Kalkgaben. 643  
**Atkins, W. B. G.,** Oxydases and their inhibitors in plant tissues. Part III: The localization of oxydases and catalases in some marine algae. 376  
**Ayers, S. Henry and Johnson, W. T. jr.,** Ability of colon bacilli to survive pasteurization. 592  
—, The alcohol test in relation to milk. 542  
**Beijerinck, M. W.,** Über das Nitratferment und über physiologische Artbildung. 633  
**Birge, E. G.,** The action of certain bacteria on the nitrogenous material of sewage. 621  
**Bokorny, Th.,** Organische Kohlenstoffernährung der Pflanzen. Parallele zwischen Pilzen und grünen Pflanzen. (Orig.) 191. 301  
**Bonazzi, A. s. Allen, E. R.**  
**Bornebusch, C. H. s. a. Weis, F.**  
—, Studien über die Lebensforderungen der Schwarzerle (*Alnus glutinosa* L.) Gärten und ihr Auftreten in Dänemark. 640  
**Bosley, Thomas J. and Sandman, Edgar A.,** A comparison between the twenty degree and the thirty-seven degree plate counts for enumerating bacteria in water. 608  
**Bottomley, W. B.,** A bacterial test for plant food accessories (auximones). 645  
**Browne, William W.,** Predominance among the members of the *Bacillus coli* group in artificially stored water. 611  
**Buddin, W.,** Note on the increased nitrate content of a soil subjected to a temporary drying in the laboratory. 629  
**Burgess, P. S. s. Lipman, C. B.**  
**Burri, R.,** Aus dem Leben der Käsebakterien. 605  
— und **Hohl, J.,** Beiträge zur Kenntnis der wissenschaftlichen Grundlagen der Milchgärprobe. T. I. Keimarme Milch als Mittel zur Abklärung der Vorgänge, welche den Ausfall der Gärprobe bedingen. 541  
—, Einfluß des Melkens mit der Melkmaschine „Omega“ auf die bakteriologische Beschaffenheit der Milch. 594  
— und **Staub, W.,** Zur Kenntnis der in reifem Emmentalerkäse vorherrschenden Bakterien. 606  
**Card, Leslie s. Rettger, Leo F.**  
**Clark, William Mansfield,** A study of the eye formation of emmental cheese. (Orig.) 230  
**Dalla Torre, G.,** Inquinamento del latte colle feci animali. 602  
**Damm, O.,** Die Pflanze und der Stickstoff der atmosphärischen Luft. 641  
**Delépine, S.,** Report to the local government board upon the effects of certain condensing and drying processes used in the preservation of milk upon its bacterial contents. 543  
**De Vogt, G.,** Untersuchungen über die bakterizide Wirkung der ultravioletten Strahlen. 615  
**Ditthorn, Fr.,** Beitrag zur Trinkwassersterilisierung mit Chlor. 616  
**Doane, C. F., and Eldredge, E. E.,** The use of *Bacillus bulgaricus* in starters for making swiss or emmental cheese. 597  
**Dold, H. und Li mei ling,** Bakteriologische Untersuchungen über die faulen Eier der Chinesen. 538  
**Donath, Ed.,** Zur Frage der Entstehung von Hefeeiweiß aus anorganischen Stickstoffverbindungen. 377

Zweite Abt. Bd. 47.

- Düggeli, M.**, Harnstoffzersetzende und salpeterbildende Spaltpilze. 641
- Dunbar, W. P.**, Neue Methoden zur Abwasserreinigung. Die Abwasserbehandlung der Stadt Straßburg i. E. 625
- Eldregde, E. E. s. Doane, C. F.**
- Emmerling, O.**, Praktikum der chemischen, biologischen und bakteriologischen Wasseruntersuchung. 608
- Fehlmann, Werner**, Die Wirkung der Limmatverunreinigung auf die Flora und Fauna der Limmat. 620
- Ford, W. W. and Pryor, J. C.**, Observations upon the bacteria found in milk heated to various temperatures. 591
- Fowler, L. W. s. Lipman, C. B.**
- Fremlin, H. S.**, Further observations on nitroso-bacteria. 636
- Fulmek, Leopold und Stift, A.**, Über im Jahre 1915 erschienene bemerkenswerte Mitteilungen auf dem Gebiete der tierischen und pflanzlichen Feinde der Kartoffelpflanze. (Orig.) 545
- Geiling, H.**, Beitrag zur Biologie der Harnstoff vergärenden Mikroorganismen mit besonderer Berücksichtigung der Anaërobiose. (Orig.) 245
- Gothe, F.**, Über das Rheinsche Verfahren zur Trinkwassersterilisation im Felde. 612
- Gratz, O. und Vas, K.**, Die Bedeutung der Bakterien bei der Käsereifung und der scharfe Geschmack des ungarischen Brinsenkäses. 604
- , Über einige neue Bakterienarten im Brinsenkäse. 604
- Gyulay, Kár.**, Das Bitterwerden der Weine und deren Behandlung. 536
- Hall, Ivan C.**, An improved (Durham) fermentation tube. 377
- Hammer, B. W.**, Bacteriological studies on the coagulation of evaporated milk. 595
- , Bacteriological studies on two yellow milk organisms. 598
- , Pasteurization of cream for butter making. 602
- und **Hauser, A. J.**, The pasteurization of milk in the final package. 591
- Hanzawa, J.**, Studien über einige Rhizopus-Arten. 377
- Harrison, W. H. and Aiyer, P. A. S.**, The gases of swamp rice soils. II. Their utilization for the aeration of the roots of the crop. 629
- Hastings, E. G. s. Sherman, J. M.**
- Hauser, A. J. s. Hammer, B. W.**
- Heinemann, P. G.**, Relation of the number of *Streptococcus lacticus* to the amount of acid formed in milk and cream. 598
- Heinemann, P. G.**, The germicidal effect of lactic acid in milk. 596
- , The variability of two strains of *Streptococcus lacticus*. 599
- Heinze, B.**, Über den günstigen Einfluß einer vermehrten Kalkzufuhr auf die gesamten Organismen. 646
- Held, D.**, Versuche und Gedanken über die konservierende Wirkung der Benzoesäure. 537
- Henneberg, W.**, Das Sauerkraut (Sauerkohl). 540
- Hiltner, Der Hederich und der Ackerseuf als Stickstoffschaffer.** 640
- Hofer, Versuche über die Vermehrung von stickstoffsammelnden Bakterien im Wasser.** 632
- Hohl, J. s. Burri, R.**
- Holterbach, H.**, Die erfolgreiche Bekämpfung der Streptokokken-Mastitis. 600
- Huntemüller, Wasserversorgung und Kanalisation im alten und heutigen Jerusalem.** 609
- Ishöfer, H.**, Die Verunreinigung der Isar durch die Münchener Kanalwässer. 623
- Jötten, K. W.**, Selbstbereitung von einwandfreiem Trinkwasser im Felde. 612
- Johnson, W. T. jr. s. Ayers, S. Henry.**
- Jone, H.**, An easy test for bacteria in milk and cream. 592
- Joshi, N. V.**, A new nitrite forming organism. 637
- Isham, R. M. s. Sackett, W. G.**
- Kappen, Düngungsversuch mit Umwandlungsprodukten des Kalkstickstoffs.** 646
- Kellermann, K. F. and Smith, N. R.**, Bacteria precipitation of calcium carbonate. 645
- Kelley, W. P.**, Ammonification and nitrification in Hawaiian soils. 631
- Kiester, William S.**, Note on the antagonism between the lactic-acid and the spore-bearing organisms in milk. 596
- Kirkpatrick, F. s. Rettger, Leo F.**
- Klein, M. A.**, Studies in the drying of soils. 629
- Kligler, J. J.**, A study of the correlation of the agglutination and the fermentation reactions among the *Streptococci*. 376
- Klut, Hartwig**, Die Reinigung gewerblicher Abwässer. 621
- Köhlisch, Über die Bedeutung der Milch für die Verbreitung der Tuberkulose.** 600
- Kossowicz, A.**, Die Zersetzung und Haltbarmachung der Eier. 538
- Krieger, Rudolf**, Beiträge zur Kenntnis der Artfrage der Knöllchenbakterien einiger Leguminosen. 637

- Krüger, W. und Roemer, H.**, Versuche über die Wirkung verschiedener Stickstoffdünger unter Berücksichtigung der Jauche und der Luftstickstoffpräparate. 644
- Kühl, H.**, Trockenmilchpräparate als Liebesgaben. 602
- Kürsteiner, J.**, Vergleichende praktische Käseversuche auf exakter Grundlage. 605
- , Wie ist die Käseinkultur entstanden, wie wird sie hergestellt und wie lauten die Erfahrungen der Praxis im Jahre 1915? 603
- Kürsteiner, Richard**, Die Bakterienflora von frischen und benutzten Streumaterialien, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Einwirkung auf Milch. (Orig.) 1
- Kyropoulos, S.**, Über die Festlegung von Kali durch Bodenbakterien. 645
- Lavanchy, C. J.**, Contribution à l'étude de la flore bactérienne du Lac de Genève. 610
- Li mei ling s. Dold, H.**
- Lipman, C. B.**, Antagonism between anions as related to nitrogen transformation in soils. 630
- , The nitrogen problem in acid soils. 631
- and **Burgess, P. S.**, The protective action against  $MgCO_3$  of  $CaCO_3$  for *Azotobacter chroococcum*. 635
- and **Fowler, L. W.**, Isolation of *Bacillus radicicola* from soil. 638
- and **Sharp, L. T.**, Effect of moisture content of a sandy soil on its nitrogen fixing power. 632
- Livingston, B. E. s. Shive, J. W.**
- Löhnis, F.**, Über das Biorisatorverfahren und die Enzymamilch. 596
- Matheson, K. J. s. Thom, Charles.**
- Masé, P.**, Oxydation de l'ammoniaque ou nitrification par les végétaux. 632
- Messerschmidt, Th.**, Über die Wirkungsweise von biologischen Abwässerreinigungskörpern. II. u. III. 626
- Meurer, R.**, Über das Biorisatorverfahren und die Leipziger Enzymamilch. 597
- Molér, Thjelvar**, Ein Beitrag zur Kenntnis der Entbindung des durch *Azotobacter* fixierten Stickstoffes. 635
- Molliard, M.**, L'azote libre et les plantes supérieures. 637
- Moon, V. H. s. Rosenow, E. C.**
- Morres, W.**, Beschleunigung der Käse- reifung durch alkalische Zusätze. 603
- Müller, Kurt**, Untersuchungen über sterilisierte Backhaus-, Enzyma- und Uviol-Milch. (Orig.) 385
- Mulvania, M.**, Observations on *Azotobacter*. 635
- Némec, B.**, Über die Bakterienknöllchen bei *Serradella*. (O bakteriovych blůzkách serradelly.) 639
- Norths, Charles E.**, The dairyman versus the dairy. 594
- Nowotny, R.**, Zur Wirksamkeit des Kresotöles in imprägnierten Hölzern. 376
- Olaru, D.**, Action favorable du manganèse sur la bactérie des légumineuses. 638
- Pryor, J. C. s. a. Ford, W. W.**
- , On the presence of spore-bearing bacteria in Washington market milk. 596
- Rahe, Alfred, H.**, A study of the so-called implantation of *Bacillus bulgaricus*. 597
- Repassy, Mikl.**, Reinigung der Abwässer durch Fischteiche. 627
- Rettger, Leo F., Kirkpatrick, William F. and Card, Leslie**, Milk feeding and its influence on the growth and mortality. Comparative study of the value of sweet and sour milk. 595
- Rippel, August**, Über den Einfluß des wechselnden Barometerstandes auf den Verlauf der alkoholischen Gärung und biologische Vorgänge überhaupt. (Orig.) 225
- Roemer, H. s. Krüger, W.**
- Rohland, P.**, Die Klärung, Reinigung und Desinfektion der städtischen und Fabrikabwässer. 622
- Rosenow, E. C. and Moon, V. H.**, On an epidemic of sore throat and the virulence of streptococci isolated from the milk. 599
- Russell, E. J. and Appleyard, A.**, The atmosphere of the soil: its composition and the causes of variation. 628
- Ruys, J. D.**, Ein betriebssicheres Verfahren zur Behandlung von Wasser für Trinkzwecke mit Hypochloriten. 617
- Sackett, W. G. and Isham, R. M.**, The origin of the „niter spots“ in certain western soils. 643
- Sandman, Edgar A. s. Bosley, Thomas J.**
- Schmitz, K. E. F.**, Über die Leistungsfähigkeit des L o b e c k schen Milchsterilisierungsverfahren (Biorisation). 588
- Schmoeger, M.**, Eine neue Methode der Jauchekonservierung. 646
- Schütz, Fr.**, Die Reinigung von Flußwasser mit Ozon. 618
- Sharp, L. T. s. Lipman, C. B.**
- Sherman, J. M. and Hastings, E. G.**, The presence of Streptococci in the milk of normal animals. 599
- Shippen, L. P.**, Common organisms in heated milk; their relation to its reactions. 592

- Shive, J. W. and Livingston, B. E.**, The relation of atmospheric evaporating power to soil moisture content at permanent wilting in plants. 628
- Simon**, Natürliche Impferde oder künstliche Bakterienkulturen zur Hülsenfruchtpfimpfung? 638
- Smith, N. R. s. Kellerman, K. F.**
- Spratt, E. R.**, The root nodules of the Cycadaceae. 639
- Staub, W. s. Burri, R.**
- Stewart, G. R.**, A vailability of the nitrogen in Pacific coast kelps. 637
- Thom, Charles**, The salt factor in the mold ripened cheeses. 603
- and **Matheson, K. J.**, Biology of Roquefort-cheese. 607
- Troussoff, A.**, Die Humusbildung aus Bestandteilen des Pflanzenorganismus. 643
- Vas, K. s. Gratz, O.**
- Veldee, M. V. s. Weinzirl, John.**
- Vogel, J.**, Einige Versuche mit Jauche. 647
- Voorhees, J. H.**, Variations in soy bean inoculation. 639
- Wagner, Paul**, Darmstädter Stallmistversuche. 647
- Walton, J. H.**, Azotobacter and nitrogen fixation in Indian soils. 635
- Wehmer, A.**, Versuche über die Bedingungen der Holzansteckung und -zersetzung durch Merulius (Hausschwammstudien IV, V). 375
- Weichhardt, W. und Wolff, M.**, Über einige handliche chemische Verfahren, kleine Mengen Trinkwasser zu entkeimen. 613
- Weinzirl, John and Veldee, M. V.**, A bacteriological method for determining manural polution of milk. 543
- Weir, W.**, The effect of removing the soluble humus from a soil on its productiveness. 643
- Weis, F. og Bornebusch, C. H.**, Über das Vorkommen des Azotobacter in dänischen Waldböden sowie über Bedeutung der Azotobacterprobe für die Bestimmung des Kalkbedürfnisses der Waldböden. (Om Azotobacters Forekomst i danske Skove, samt om Azotobacterprøvens Betydning for Bestemmelsen af Skovjorders Kalktrang.) 634
- Whiting, A. L.**, A biochemical study of nitrogen in certain legumes. 638
- Wilhelmi, Julius**, Kompendium der biologischen Beurteilung des Wassers. 609
- Will, H.**, Experimentelle Untersuchungen zur Methodik der biologischen Untersuchung von Brauwasser, Verhalten der Organismen des gleichen Wassers gegenüber der Würze verschiedener Brauereien. 535
- Wolff, A.**, Die Milchhygiene auf dem VI. internationalen Kongreß für Milchwirtschaft in Bern. 593
- Wolff, M. s. Weichhardt, W.**
- Zilva, S. S.**, The rate of inactivation by heat of peroxidase in milk. I. 597
- Zweigelt, Fritz**, Blattlausgallen, unter besonderer Berücksichtigung der Anatomie und Ätiologie. (Orig.) 408

## II. Namen- und Sachverzeichnis.

- Abies nobilis*, Gallenbildung durch Chermes. 411
- Abutilon*, Schädigung durch *Verticillium albo-atrum*. 576
- Abwasser, biologische Reinigungskörper, Wirkungsweise. 626
- , gewerbliches, Reinigung. 621. 622
- , N-Verbindungen, Wirkung von Bakterien. 621
- , Reinigung durch Fischteiche. 625. 627
- , Wirkung auf Mikroorganismen. 619. 620
- Acetylpropionsäure, Assimilation durch Bakterien. 224
- Ackersenf, Bedeutung für die Stickstoffsammlung im Boden. 640
- Acrostalagmus*, Erreger der Welkekrankheit von *Panax quinquefolium*. 576
- Actinobacillus oligocarbophilus*, Auftreten in Anhäufungskulturen von Salpeterbildnern. 634
- *paulotrophus*, Auftreten in Anhäufungskulturen von Salpeterbildnern. 634
- Actinomyces chromogenus*, Erreger des Kartoffelschorfs. 559
- , Temperaturoptimum. 560
- *oligocarbophilus*, Nitritbildung. 637
- *scabies*, Anfälligkeit verschiedener Kartoffelsorten. 554
- , Erreger des Kartoffelschorfs. 554
- Adelges abietis*, Gallenbildung an *Picea excelsa*, chemische Untersuchung. 413
- Adelphovorus rapidus*, Schädling der Kartoffel. 546
- Äpfelsäure, Assimilation durch Bakterien. 302

- Aether, Kohlenstoffquelle für *Azotobacter chroococcum*. 635
- Aethylaldehyd, Assimilation durch Bakterien. 211
- Aethylalkohol, Assimilation durch Bakterien. 195
- Aethylenglycol, Assimilation durch Pilze. 199
- Agrotis exclamatoris*, Schädling der Kartoffel. 547
- *segetum*, Schädling der Kartoffel, Bekämpfungsmaßnahmen. 546
- Aktinomyceten, Vorkommen in Kuhmist. 60. 177
- , — — Laubstreu. 85. 88. 90
- , — — Milch. 180
- , — im Mühlenstaub. 137
- , — in Riedstreu. 80. 81
- , — — Sägemehl. 115
- , — an Schwarzstreu. 45. 47. 48. 51
- , — — Stroh. 9. 13. 14. 16. 17. 19
- , — in Torfstreu. 159
- Alaun und Ozon, Reinigung von Wasser. 618
- Algen, Assimilation von Glyoxalsäure. 224
- , Nachweis von Katalasen und Oxydasen. 376
- Alkalien, Beschleunigung der Käsereifung. 603
- Alnus glutinosa*, Lebensbedingungen. 640
- Alternaria solani*, Schädling der Kartoffel. 553
- Ameisensäure, Assimilation durch *Bacillus methylicus*. 218
- Amerika, Bedeutung des Koloradokäfers. 550
- , — von *Spondylocadium atrovirens* für den Kartoffelbau. 555
- , Einfuhrverbot für Kartoffeln. 555
- , Kartoffelbau, Bedeutung von *Bacillus phytophthorus*. 555
- Ammonisation im Boden, Wirkung von Anionen. 630
- Amygdalin, Assimilation durch Hefe. 322
- Anchusa officinalis*, Gallenbildung durch *Monanthia echii*. 411
- Ancylus*, Nachweis im verunreinigten Wasser. 621
- Androthrips*, Gallenbildung an *Cordia suaveolens*, Kernhypertrophie. 424
- Aneurothrips*, Gallenbildung an *Cordia suaveolens*, Kernhypertrophie. 424
- Anthyllis vulneraria*, Knöllchenbakterien, Untersuchung. 638
- Apfelbaum, Gallenbildung durch *Aphis oxyacanthae*, Zellwandveränderung. 427
- , — — *Aphis pomi*, anatomische Untersuchung. 421
- Aphiden, Gallenbildung an *Crataegus*. 411
- , — — *Hemigranthis confinis*. 449
- , — — *Lonicera xylosteum*. 413
- , — — *Prunus domestica*. 414
- , — — *Schoutenia ovata*. 411
- Aphis, amenticola* Gallenbildung an *Salix alba*. 410
- *atriplicis*, Gallenbildung an *Atriplex*. 410
- *oxyacanthae*, Gallenbildung am Apfelbaum, Zellwandveränderung. 427
- , — — an *Crataegus oxyacantha*, Gerbstoffbildung. 428
- *oxycanthae*, Gallenbildung an *Pirus malus*. 415
- *papaveris*, Gallenbildung an Runkelrüben. 411
- *pomi*, Gallenbildung am Apfelbaum, anatomische Untersuchung. 421
- , — — an *Pirus malus*. 415
- Aporosa microcalyx*, Gallenbildung durch *Dolerothrips trybomi*. 486
- Arabinose, Assimilation durch Bakterien. 323
- Arsenverbindungen, Bekämpfungsmittel gegen Koloradokäfer. 550. 551
- Asparaginsäure, Assimilation durch Hefe. 224
- Aspergillus fumigatus*, Wirkung von Salz auf das Wachstum. 604
- *glaucus*, Durchdringen von Eierschalen. 538
- *nidulans*, Wirkung von Salz auf das Wachstum. 604
- *niger*, Durchdringung von Eierschalen. 538
- *pseudoclavatus*, Assimilation von Lactose. 324
- Atriplex*, Gallenbildung durch *Aphis atriplicis*. 410
- Azotobacter*, Nachweis in Böden Indiens. 635
- , — — Waldböden Dänemarks. 634
- *agilis*, Ausscheidung gelöster Stickstoffverbindungen. 636
- *chroococcum*, Assimilation von Aether. 635
- , —, Wirkung von Calcium- und Mangankarbonat. 634
- *vinelandii*, Ausscheidung gelöster Stickstoffverbindungen. 636
- Bacillus aerogenes capsulatus*, Abtötungstemperatur. 591
- , — —, Vorkommen in Milch. 596
- *anthracis*, Nachweis im Wasser. 609
- , —, Zersetzung organischer Säuren. 307
- *beijerincki*, Vorkommen im Sauerkohl. 540
- *botulinus*, Toxinbildung, Wirkung von Benzoesäure. 538
- *brassicæ fermentati*, Vorkommen im Sauerkohl. 540
- *bulgaricus*, Lebensfähigkeit im menschlichen Darm. 597
- , —, Verhütung abnormer Gasbildung im Emmentaler Käse. 597
- , —, Vorkommen im Roquefortkäse. 607

- Bacillus cerasinus* n. sp., Vorkommen im Schafkäse. 604
- *cirrosus* n. sp., Vorkommen im Schafkäse. 604
- *cloacae*, Wirkung auf die N-Verbindungen der Abwässer. 621
- *coli*, Gasbildung, Unabhängigkeit der Gasblasen von den Bakterien-Kolonien. 236
- —, Abtötungstemperatur, Untersuchung. 592
- —, Nachweis im Wasser. 609
- — *communis*, Wirkung auf die N-Verbindungen der Abwässer. 621
- *cucumeris fermentati*, Urinkonservierung. 646
- — —, Vorkommen im Sauerkohl. 540
- *cyanogenus*, Zersetzung organischer Säuren. 307
- *diphtheriae*, Abtötung durch Milchsäure. 596
- *dysenteriae*, Abtötung durch Milchsäure. 596
- *exilis* n. sp., Vorkommen im Schafkäse. 604
- *fluorescens*, Zersetzung organischer Säuren. 307
- — *liquefaciens*, Nachweis im Genfer See. 610
- — *non liquefaciens*, Nachweis im Genfer See. 610
- — *putidus*, Zersetzung organischer Säuren. 307
- *gravidus* n. sp., Vorkommen im Schafkäse. 604
- *indolicus* n. sp., Vorkommen im Schafkäse. 604
- *leichmanni*, Vorkommen im Sauerkohl. 540
- *listeri*, Vorkommen im Sauerkohl. 540
- *megatherium*, Harnstoffzersetzung. 642
- —, Vorkommen in Kuhmist. 177
- — —, — — Laubstreu. 84. 92
- — —, — — Milch. 180
- — —, — — Sägemehl. 115
- — —, — — an Schwarzstreu. 48
- — —, — — in Torfstreu. 159
- *mesentericus*, Infektion von Eiern. 538
- —, Vorkommen in Kuhmist. 24. 60.
- — —, — — Laubstreu. 103. 177
- — —, — — Milch. 85. 89
- — —, — — Riedstreu. 81
- — —, — — Sägemehl. 115
- — —, — — an Schwarzstreu. 46. 47. 52
- — —, — — Stroh. 9. 18
- — —, — — in Torfstreu. 159
- — *ruber*, Wirkung auf die N-Verbindungen der Abwässer. 621
- — *vulgatus*, Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen. 386
- *methylicus*, Assimilation von Ameisensäure. 218
- *mycoides*, Harnstoffzersetzung. 642
- Bacillus mycoides*, Vorkommen in Kuhmist. 24. 177
- — —, — — Laubstreu. 84. 85. 88
- — —, — — an Schwarzstreu. 56
- — —, — — in Torfstreu. 159
- *noviodemensis* n. sp., Nachweis im Genfer See. 611
- *oxalaticus*, Vorkommen in Torfstreu. 159
- *parabutyricus* n. sp., Vorkommen im Schafkäse. 604
- *paratyphosus*, Abtötung durch Milchsäure. 596
- *pasteuri* (?), Biologie. 252. 254. 257. 258
- —, Sporenbildungsvermögen, Verlust. 259
- *phytophthorus*, Anfälligkeit verschiedener Kartoffelsorten. 554
- —, Bedeutung für den Kartoffelbau in Amerika. 555
- —, Schädling der Kartoffel. 553
- *proteus vulgaris*, Infektion von Eiern. 538
- — —, Wirkung auf die N-Verbindungen der Abwässer. 621
- *pulorum*, Infektion von Hühnern, Bedeutung der Ernährung. 595
- *putrificus*, Vorkommen im Kuhmist. 177
- — —, — — in Milch. 180
- — —, — — im Mühlenstaub. 137
- — —, — — in Sägemehl. 115
- — —, — — an Schwarzstreu. 48. 49. 50. 52—55
- — —, — — in Torfstreu. 159
- *pyocyaneus*, Wirkung auf die N-Verbindungen der Abwässer. 621
- —, Zersetzung organischer Säuren. 307
- *radicicola*, Isolierung aus Boden. 638
- —, Knöllchenbildung an Cycadaceen. 639
- *solanacearum*, Schädling der Kartoffel. 557
- — —, — — Tomate. 557
- *sporogenes*, Indikator für Verunreinigung von Milch. 543
- *submergens* n. sp., Vorkommen im Schafkäse. 604
- *subtilis*, Vorkommen in Kuhmist. 103. 177
- — —, — — Laubstreu. 89
- — —, — — an Schwarzstreu. 44. 45. 50. 52
- — —, — — in Torfstreu. 159
- —, Wirkung auf die N-Verbindungen der Abwässer. 621
- *tumescens*, Vorkommen in Torfstreu. 159
- *typhi*, Nachweis im Wasser. 609
- *typhosus*, Abtötung durch Milchsäure. 596
- Backhausmilch s. Milch, Backhaus-.
- Bacterium acidi lactici*, Vorkommen in Kuhmist. 24. 60. 95. 103. 177

<b>Bacterium acidi lactici</b> , Vorkommen in		<b>Bacterium herbicola</b> , Vorkommen in	
Laubstreu.	87. 90—92	Laubstreu.	87—91
— — —, — im Mühlenstaub.	137	— — —, — im Mühlenstaub.	137
— — —, — in Riedstreu.	80. 81	— — —, — in Sägemehl.	115
— — —, — an Schwarzstreu.	45—47.	— — aureum, Vorkommen in Riedstreu.	
	50. 52. 53. 55		80. 81
— — —, — — Stroh.	9. 10. 13. 15.	— — —, — an Schwarzstreu.	44. 45.
	16. 19		49. 50—56
— — —, — in Torfstreu.	158	— — —, — — Stroh.	8. 10. 11. 13—19
— — —, — — Milch.	27. 180	— — rubrum, Vorkommen an Stroh.	10
— adipis n. sp., Vorkommen in Schaf-		— lactis acidi, Vorkommen in Roquefort-	
käse.	604	käse.	607
— aerogenes, Vorkommen im Kuhmist.		— — —, — — Sauerkohl.	540
	177	— lacustrae n. sp., Nachweis im Genfer	
— — —, — in Milch.	180	See.	611
— — —, — — Sägemehl.	115	— lemanense n. sp., Nachweis im Genfer	
— — —, — — Torfstreu.	158	See.	611
— atrosepticum, Schädling der Kartoffel.		— phytophthorum, Erreger der Schwarz-	
	578	beinigkeit der Kartoffel.	578
— calcis, Zugehörigkeit zu Pseudomonas.		— planctonicum n. sp., Nachweis im	
	645	Genfer See.	611
— casëi, Vorkommen im Emmentaler		— prodigiosum, Infektion von Eiern.	538
Käse.	607	— —, Harnstoffzersetzung.	642
— chodati n. sp., Nachweis im Genfer		— —, Vorkommen im Kuhmist.	177
See.	611	— punctatum, Vorkommen in Laubstreu.	
— coli, Harnstoffzersetzung.	642		91
— —, Vorkommen in Kuhmist.	60. 95.	— — —, — — Milch.	180
	103. 177	— — —, — — Riedstreu.	80. 81
— — —, — — Laubstreu.	84. 85. 88.	— — —, — an Schwarzstreu.	46. 47.
	91. 92		49. 53
— — —, — — — Milch.	180	— — —, — — Stroh.	10. 11. 15. 16
— — —, — im Mühlenstaub.	137	— — —, — in Torfstreu.	158
— — —, — in Riedstreu.	80. 81	— putidum, Vorkommen im Kuhmist.	177
— — —, — — Sägemehl.	115	— — —, — in Laubstreu.	86. 87
— — —, — an Schwarzstreu.	44—47. 49.	— — —, — im Mühlenstaub.	137
	52—55	— — —, — in Riedstreu.	81
— — —, — in Torfstreu.	158	— — —, — — Sägemehl.	115
— — —, — an Stroh.	9	— — —, — an Schwarzstreu.	46. 53. 56
— — —, — in benutztem Stroh.	24	— — —, — — Stroh.	13. 14. 18
— erythrogenes, Harnstoffzersetzung.	642	— — —, — in Torfstreu.	158
— fluorescens, Harnstoffzersetzung.	642	— rufum n. sp., Vorkommen im Schaf-	
— —, Vorkommen in Kuhmist.	24. 60.	käse.	604
	103. 177	— saponificans n. sp., Vorkommen im	
— — —, — — Laubstreu.	87—91	Schafkäse.	604
— — —, — — Milch.	180	— seileri n. sp., Nachweis im Genfer See.	
— — —, — im Mühlenstaub.	137		611
— — —, — in Riedstreu.	80. 81	— sepedonicum, Schädling der Kartoffel.	
— — —, — — Sägemehl.	115		578
— — —, — an Schwarzstreu.	45—47. 49	— solanacearum, Schädling der Kartoffel.	
	—53. 55		553
— — —, — — Stroh.	11. 13—16. 18. 19	— solanisaprum, Schädling der Kartoffel.	
— — —, — in Torfstreu.	158		578
— genevense n. sp., Nachweis im Genfer		— troilli, Widerstandsfähigkeit gegen hohe	
See.	611	Temperaturen.	592
— güntneri, Vorkommen am Euter.	541	— vulgare, Harnstoffzersetzung.	642
— — —, — in Kuhmist.	24. 177	— welchii, Widerstandsfähigkeit gegen	
— — —, — — Laubstreu.	87. 88. 90	hohe Temperaturen.	592
— — —, — — — Milch.	27. 180	— xanthochlorum, Schädling der Kartof-	
— — —, — im Mühlenstaub.	137	fel.	578
— — —, — in Sägemehl.	115	<b>Bakterien</b> , Assimilation von Acetylpro-	
— — —, — an Schwarzstreu.	45. 53	pionsäure.	224
— — —, — — Stroh.	8. 10. 11. 13—19	— — — Aethylaldehyd.	211
— harpae n. sp., Nachweis im Genfer See.		— — — Aethylalkohol.	195
	611	— — — Bernsteinsäure.	221

- Bakterien, Assimilation von Brenztraubensäure.** 224  
 —, — — Methylal. 210  
 —, — — Phenol. 200  
 —, — — Propionsäure. 221  
 —, — — Propylalkohol. 196  
 —, — — Weinsäure. 222  
 —, Bedeutung für die Lochbildung im Emmentaler Käse. 232  
 —, Bildung von Calciumkarbonat. 645  
 —, Boden-, Ammonisation, Wirkung von Anionen. 630  
 —, —, Kalifestlegung, Untersuchung. 645  
 —, —, Nitrifikation, Wirkung von Anionen. 630  
 —, Euter-, hygienische Bedeutung. 593  
 —, Gelbfärbung von Milch. 598  
 —, Harnstoff-, Isolierung aus Boden. 641  
 —, Infektion von Eiern. 538  
 —, Knöllchen-, Artfrage. 637  
 —, —, Impfung, Vergleich mit Impferde. 638  
 —, —, Wirkung von Mangan. 638  
 —, Milchsäure-, Antagonismus mit anderen Bakterien der Milch. 596  
 —, —, Bedeutung für die Sauerkohlbereitung. 540  
 —, —, Verwendung im Molkereigewerbe. 594  
 —, salpeterbildende, Isolierung aus Boden. 642  
 —, Stickstoffbindende, Vermehrung im Wasser. 632  
 —, Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen in Milch. 591.592  
 —, Wirkung von Hydrozimmersäure. 302  
 —, Zersetzung von organischen Säuren. 307  
**Bangia atropurpurea**, Nachweis im verunreinigten Wasser. 621  
**Batrachospermum moniliforme**, Nachweis im verunreinigten Wasser. 621  
**Baumwollerdraupe** s. *Prodenia ornithogalli*.  
**Baumwollstaude**, Welkekrankheit durch *Verticillium alboatrum* (?). 576  
**Benzoësäure**, Assimilation durch Bakterien. 302  
 —, Wirkung auf Toxinbildung durch *Bacillus botulinus*. 538  
 —, konservierende Wirkung. 537  
**Benzol**, Bekämpfungsmittel gegen Koloradokäfer. 547  
**Bernsteinsäure**, Assimilation durch Bakterien. 221  
**Biorisation der Milch**, Untersuchung. 588  
**Bitterwerden des Weins**, Bedeutung des Säuregrades. 536  
**Blattläuse**, Saugvorgang. 524  
**Blattlausgallen**, Anatomie und Ätiologie, Untersuchung. 408  
 —, Verteilung der Stiche. 498  
**Blattrollgallen**, Entwicklungsmechanik. 471  
**Blattrollkrankheit der Kartoffel**. 553  
**Blattrollkrankheit der Kartoffel, Bekämpfungsversuche mit Schwefeldüngung**. 586  
 — — —, biochemische Untersuchung. 579  
 — — —, Vorbeugungsmaßregeln. 580  
**Blitz**, Schaden an Kartoffeln. 585  
**Boden**, Braunfärbung, Bedeutung von *Azotobacter*. 643  
 —, Hochmoor-, Stickstoffumsetzungen, Wirkung von Kalkdünger. 643  
 —, Isolierung von *Bacillus radicola*. 638  
 —, — — Harnstoffbakterien. 641  
 —, — salpeterbildender Bakterien. 642  
 —, Luft, Zusammensetzung. 628  
 —, Methanbildung, Wirkung der Gründüngung. 629  
 —, saurer, Nitrifikationsvermögen. 631  
 —, Stickstoffbindung, Bedeutung des Wassergehaltes. 632  
 —, Stickstoffsammlung, Bedeutung des Aockersens und Hederichs. 640  
 —, Trocknen, Wirkung auf die Ertragsfähigkeit. 629  
**Bohne**, Assimilation von Methylalkohol. 194  
**Bordeauxbrühe**, Bekämpfungsmittel gegen Krautfäule der Kartoffel. 553  
**Bordeauxpaste**, Bekämpfungsmittel gegen *Phytophthora*. 565  
**Brauwasser**, s. Wasser, Brau-  
**Brenztraubensäure**, Assimilation durch Bakterien. 224  
**Brinsenkäse**, bakteriologische Untersuchung. 604  
**Cacalia**, Assimilation von Glycerin. 199  
**Calciumbimalat**, Assimilation durch *Spirogyra*. 302  
**Calciumkarbonat**, Wirkung auf *Azotobacter chroococcum*. 634  
**Capsella bursa pastoris**, Überwinterung des Mycel von *Cystopus candidus*. 570  
**Cellulose**, Assimilation durch *Monilia sitophila*. 323  
**Chermes**, Gallenbildung durch *Abies nobilis*. 411  
**Chinasäure**, Assimilation durch Bakterien. 301  
 —, — — Pilze. 301  
**Chrysophlyctis endobiotica**, Bekämpfungsversuche mit Formaldehyd. 563  
**Cladosporium herbarum**, Durchdringen von Eierschalen. 538  
**Cocciden**, Gallenbildung an *Eucalyptus*. 412  
 —, — — *Globularia salicina*. 412  
 —, — — *Protium javanicum*. 450  
**Colletotrichum solanicolum** n. sp., Schädling der Kartoffel. 575  
**Cordia suaveolens**, Gallenbildung durch *Aneurothrips*. 424  
**Corticium vagum** var. *solani*, Beziehung zu *Rhizoctonia solani*. 574  
 — — —, Identität mit *Hypochnus solani*. 574



- Crataegus*, Gallenbildung durch Aphiden. 411  
 — *oxyacantha*, Gallenbildung durch *Aphis oxyacanthae*, Gerbstoffbildung. 428  
*Cryptothrips fuscipennis*, Gallenbildung an *Fagraea litoralis*. 463  
 — — — *Spatholobus litoralis*. 463  
 — — — — —, Reduktion der mechanischen Gewebe. 442  
*Cycadaceen*, Knöllchenbildung durch *Bacillus radiculicola*. 639  
*Cystopus candidus*, Überwinterung von Mycel auf *Capsella bursa pastoris*. 570  
 — — — — — *Lepidium virginicum*. 570  
  
*Dahlia*, Welkekrankheit durch *Verticillium dahliae*. 576  
*Desazon*, Bereitung von Trinkwasser. 613. 617  
*Deutschland*, Auftreten des Koloradokäfers. 547  
*Dextrin*, Assimilation durch *Monilia sitophila*. 323  
*Dipteren*, Gallenbildung an *Vaccinium uliginosum*. 470  
*Dolerothrips trybomi*, Gallenbildung an *Aporosa microcalyx*. 486  
*Dünger*, Vorkommen von Bakterien. 24. 60. 95. 103. 177  
*Düngung*, Grün-, Wirkung auf die Methanbildung im Boden. 629  
 —, Schwefel-, Bekämpfungsversuche gegen Blattrollkrankheit der Kartoffel. 586  
 —, — — — Kartoffelschorf. 586  
*Dulcit*, Assimilation durch Pilze. 199  
  
*Eibisch*, Welkekrankheit durch *Verticillium alboatrum*. 576  
*Eier*, Bakteriengehalt alter. 539  
 —, Infektion mit Bakterien. 538  
 —, Konservierung in China. 538  
*Eierpflanze*, Welkekrankheit durch *Verticillium alboatrum*. 576  
*Eisenfleckigkeit* der Kartoffel, Untersuchung. 584  
*Engerlinge*, Schädlinge der Kartoffel. 546. 547  
*Enzymamilch* s. Milch, Enzymam.-  
*Epitrix cucumeris*, Schädling der Kartoffel. 546  
*Erbsenblattlaus*, Gallenbildung an *Geum rivale*, Deformation der Haare. 441  
*Erdföhe*, Bekämpfungsmethode. 552  
*Erineum*, Gallenbildung an *Phlomis samia*, Deformation der Haare. 441  
 —, — — *Quercus ilex*, Deformation der Haare. 441  
*Eriophyes alpestris*, Gallenbildung an *Rhododendron ferrugineum*. 482  
 — *tetranichus*, Gallenbildung an *Tilia silvestris*. 479  
 — — — — —, Anatomie. 462  
  
*Eucalyptus*, Gallenbildung durch Cocciden. 412  
*Eugenia polyantha*, Gallenbildung durch Thripseiden. 450  
*Euterbakterien*, hygienische Bedeutung. 593  
*Euterflora*, Untersuchung. 541  
*Evonymus*, Assimilation von Dulcit. 199  
  
*Fagraea litoralis*, Gallenbildung durch *Cryptothrips fuscipennis*. 463  
*Ficus glomerata*, Gallenbildung durch *Gigantothrips elegans*, Kernhypertrophie. 424  
*Formaldehyd*, Bekämpfungsversuche gegen *Chrysophlyctis endobiotica*. 563  
*Formaldehydbeize*, Bekämpfungsversuche gegen Kartoffelschorf. 586  
*Fraxinus excelsior*, Gallenbildung durch *Prociphilus nidificus*. 414  
 — — — — —, Kernhypertrophie. 424  
*Fusarium coeruleum*, Schädling der Kartoffel. 553  
 — *eumartii* n. sp., Schädling der Kartoffel. 577  
 — *hyperoxysporum*, Schädling der Kartoffel. 577  
 — *orthoceras*, Schädling der Kartoffel. 553  
 — *oxysporum*, Schädling der Kartoffel. 577  
 — *radiculicola*, Schädling der Kartoffel. 577  
 — *trichothecioides*, Schädling der Kartoffel. 553  
  
*Gärung*, Alkohol-, Wirkung des Barometerstandes. 225  
 —, Untersuchungsmethode, 377  
*Galaktose*, Assimilation durch Bakterien. 320  
*Gallen*, Blattlaus-, Anatomie und Aetiologie, Untersuchung. 408  
 — an Pflanzen, Bedeutung des Entwicklungsstadiums des Blattes. 486  
 — — —, Bildung von Riesenzellen. 430  
 — — —, Chlorophyllmangel. 428  
 — — —, Kristalldrüsen. 429  
 — — —, Mangel an Spaltöffnungen. 439  
 — — —, Trichome. 439  
 — — —, Veränderung der Epidermis. 436  
 — — —, Veränderungen der Gefäßbündel. 443  
 —, Definition. 530  
 — durch *Adelges abietis* an *Picea excelsa*, chemische Untersuchung. 413  
 — — *Androthrips* an *Cordia suaveolens*, Kernhypertrophie. 424  
 — — *Aneurothrips* an *Cordia suaveolens*, Kernhypertrophie. 424  
 — — Aphiden an *Crataegus*. 411  
 — — — — *Hemigraphis confinis*. 449

- Gallen durch Aphiden an *Lonicera xylosteum*. 413  
 — — — — *Prunus domesticus*. 414  
 — — — — *Schoutenia ovata*. 411  
 — — *Aphis amenticola* an *Salix alba*. 410  
 — — *Aphis atriplicis* an *Atriplex*. 410  
 — — *Aphis oxyacanthae* am Apfelbaum, Zellwandveränderung. 427  
 — — — — an *Crataegus oxyacantha*, Gerbstoffbildung. 428  
 — — — — — *Pirus malus*. 415  
 — — *Aphis papaveris* an Runkelrüben. 411  
 — — *Aphis pomi* am Apfelbaum, anatomische Untersuchung. 421  
 — — — — — an *Pirus malus*. 415  
 — — *Chermes* an *Abies nobilis*. 411  
 — — *Cocciden* an *Eucalyptus*. 412  
 — — — — *Globularia salicina*. 412  
 — — — — *Protium javanicum*. 450  
 — — *Cryptothrips fuscipennis* an *Fagraea litoralis*. 463  
 — — — — — *Spatholobus litoralis*. 463  
 — — — — — —, Reduktion der mechanischen Gewebe. 442  
 — — *Dipteren* an *Vaccinium uliginosum*. 470  
 — — *Dolerothrips trybomi* an *Aporosa microcalyx*. 486  
 — — Erbsenblattlaus an *Geum rivale*, Deformation der Haare. 441  
 — — *Erineum* an *Phlomis samia*, Deformation der Haare. 441  
 — — — — *Quercus ilex*, Deformation der Haare. 441  
 — — *Eriophyes alpestris* an *Rhododendron ferrugineum*. 482  
 — — *Eriophyes tetranichus* an *Tilia silvestris*. 479  
 — — — — — —, Anatomie. 462  
 — — *Giganthothrips elegans* an *Ficus glomerata*, Kernhypertrophie. 424  
 — — *Gynaikothrips chavicae* an *Piper betle*, Reduktion der mechanischen Gewebe. 443  
 — — *Gynaikothrips pallipes* an *Piper sarmentosum*. 463  
 — — *Gynaikothrips viticola* an *Vitis lanceolaria*. 457  
 — — *Heteropteren* an *Teucrium*, Deformation der Haare. 441  
 — — *Lachnus juglandis* an *Juglans*, Zellwandverholzung. 427  
 — — *Monanthia echii* an *Anchusa officinalis*. 411  
 — — *Myzus ribis* an *Ribes*, Veränderung der Transpiration. 444  
 — — *Pemphigus* an *Pistacia atlantica*. 449  
 — — — — — *Pistacia terebinthus*. 410  
 — — *Pemphigus affinis* an *Populus*. 404  
 — — — — — —, Chlorophyllmangel. 428  
 Gallen durch *Pemphigus bursarius*, Fehlen mechanischer Gewebe. 442  
 — — — — an *Pistacia*, Veränderungen der Gefäßbündel. 444  
 — — — — — *Populus pyramidalis*, Veränderung der Atmung. 445  
 — — *Pemphigus cornicularius*, Untersuchung. 413  
 — — *Pemphigus ovatooblongus* an *Ulm*. 491  
 — — *Pemphigus riccobosii* an *Pistacia atlantica*. 450  
 — — *Pemphigus semilunarius* an *Pistacia*, Behaarung. 439  
 — — *Pemphigus spirothecae* an *Populus*. 409  
 — — — — —, Fehlen mechanischer Gewebe. 442  
 — — *Perrisia filicina* an *Pteris*. 474  
 — — *Phyllocoptes teucris* an *Teucrium*. 474  
 — — *Prociphilus nidificus* an *Fraxinus excelsior*. 414  
 — — — — — —, Kernhypertrophie. 424  
 — — *Prociphilus xylostei* an *Lonicera xylosteum*. 414  
 — — *Rhinocola speciosa* an *Populus nigra*. 450  
 — — — — — — Pappel. 489  
 — — *Schizoneura* an *Ulmus*. 424  
 — — *Siphocoryne xylostei* an *Lonicera*. 409  
 — — *Tetraneura* an *Ulmus*. 424  
 — — *Tetraneura ulmi* an *Ulm*, Mangel an Spaltöffnungen. 439  
 — — *Thripsiden* an *Eugenia polyantha*. 450  
 — — — — — *Melastoma polyanthum*. 462  
 — — *Thysanopteren* an *Stellaria*. 422  
 — — — — — *Vicia cracca*. 450  
 — — *Tilium volvens* an *Tilia silvestris*. 468  
 Gallussäure, Assimilation durch Schimmelpilze. 202  
 Genfer See, bakteriologische Untersuchung. 610  
 Gerbstoff, Bildung in Gallen der *Aphis oxyacanthae* an *Crataegus oxyacantha*. 428  
*Geum rivale*, Gallenbildung durch Erbsenblattlaus, Deformation der Haare. 441  
*Giganthothrips elegans*, Gallenbildung an *Ficus glomerata*, Kernhypertrophie. 424  
*Globularia salicina*, Gallenbildung durch *Cocciden*. 412  
 Glycerin, Kohlenstoffquelle für *Bacillus subtilis*. 325  
 Glycocoll, Assimilation durch Schimmelpilze. 335  
 —, — — *Spirogyra*. 335  
 Glyoxalsäure, Assimilation durch Algen. 224

- Gynaikothrips chavicae*, Gallenbildung an *Piper betle*, Reduktion der mechanischen Gewebe. 443  
 — *pallipes*, Gallenbildung an *Piper sarmetosum*. 463  
 — *viticola*, Gallenbildung an *Vitis lanceolaria*. 457  
 Harnstoff, Stickstoffquelle für Pilze 334  
 —, Vergärer, Bedeutung des Sauerstoffs für Wachstum und Harnspaltung. 284  
 —, Vergärung, Biologie der Mikroorganismen. 245  
 —, Vergärungsvermögen, systematischer Wert. 261  
 Harnstoffbakterien s. Bakterien, Harnstoff-  
 Harnstoffhydrationsvermögen verschiedener Mikroorganismen. 274  
 Hausschwamm, Holzzersetzung, Bedingungen. 375  
 Hederich, Bedeutung für die Stickstoffsammlung im Boden. 640  
 Hefe, Assimilation von Asparaginsäure. 224  
 —, Eiweißbildung aus anorganischen Stickstoffverbindungen. 377  
 —, Gärung, Wirkung des Barometerstandes. 225  
 —, Wirkung von Benzoëssäure. 302  
 —, — — Chinasäure. 301  
*Helianthus diversicatus*, Überwinterung des Mycel von *Plasmopara halstedii*. 570  
*Hemigraphis confinis*, Gallenbildung durch Aphiden. 449  
*Heterodera radicola*, Bekämpfungsmaßnahmen. 545  
 — —, Entwicklungsdauer. 545  
 — —, Schädling der Kartoffel, Wirkung auf die Ernte. 545  
 Heteropteren, Gallenbildung an *Teucrium*, Deformation der Haare. 441  
 Holland, Auftreten von *Phytophthora erythroseptica*. 557  
 — — — *Spongopora subterranea*. 556  
 Holz, Konservierung mit Kreosotöl. 376  
 —, Zersetzung durch Hausschwamm, Bedingungen. 375  
 Hühner, cholerakranke, Ernährung mit Milch. 595  
 —, natürliche Feinde des Koloradokäfers. 549  
 Humus, Bildung, Untersuchung. 643  
 Hydrozimmersäure, Wirkung auf Bakterien. 302  
 Hydrurus, Nachweis im verunreinigten Wasser. 621  
*Hyoscyamus*, Schädigung durch *Psylliodes affinis*. 551  
 Hypochloride, Herstellung von Trinkwasser. 617  
*Hypochnus solani*, Identität mit *Corticium vagum* var. *solani*. 574  
 — —, Schädling der Kartoffel. 553  
 Jauche, Stickstoffverluste, Verhütung. 245  
 —, Stickstoffumsetzungen. 647  
 Jerusalem, Wasserversorgung und Kanalisation. 609  
 Impferde, Wirkung, Vergleich mit Bakterienimpfung. 638  
 Inulin, Assimilation durch *Monilia sitophila*. 323  
 Isar, Verunreinigung durch Kanalwässer. 623  
 Juglans, Gallenbildung durch *Lachnus juglandis*, Zellwandverholzung. 427  
 Käse, Brinsen-, bakteriologische Untersuchung. 604  
 —, Emmentaler-, abnorme Gasbildung, Verhütung durch *Bacillus bulgaricus*. 597  
 —, —, bakteriologische Untersuchung. 606  
 —, —, Gasbildung. 234  
 —, —, Lochbildung, Bedeutung der Bakterien. 232  
 —, Herstellung, Verwendung von Reinkulturen. 605  
 —, Reifung, Beschleunigung durch Alkalien. 603  
 —, Roquefort-, bakteriologische Untersuchung. 607  
 —, Schaf-, bakteriologische Untersuchung. 604  
 Kali, Festlegung durch Bodenbakterien, Untersuchung. 645  
 Kalk, Düngung, Wirkung auf Stickstoffumsetzungen in Hochmoorböden. 643  
 —, Konservierung von Kartoffeln in Mieten, Versuche. 586  
 —, Wirkung auf Organismen. 646  
 Kalkstickstoff, Umwandlungsprodukte, Düngungsversuche. 646  
 Kartoffel, Anfälligkeit verschiedener Sorten gegen *Actinomyces scabies*. 554  
 —, — — — *Bacillus phytophthorus*. 554  
 —, Assimilation von Dulcit. 199  
 —, — — Glyzerin. 199  
 —, Blattrollkrankheit. 553  
 —, —, Bekämpfungsversuche mit Schwefeldüngung. 586  
 —, — biochemische Untersuchung. 579  
 —, — Vorbeugungsmaßregeln. 580  
 —, Einfuhrverbot in Amerika. 555  
 —, Eisenfleckigkeit, Untersuchung. 584  
 —, Knollenfäule durch *Phytophthora arecae*. 572  
 —, Konservierungsversuche mit Schwefel und Kalk in Mieten. 586  
 —, Krankheiten, Bedeutung für die Saatgutenerkennung. 553  
 —, —, Beschreibung und Bekämpfung. 555  
 —, Krankheiten in Schweden. 553  
 —, Krautfäule, Bekämpfung mit Bordeauxbrühe. 553. 564

- Kartoffel, Krebs, Bekämpfungsmaßnahmen.** 562  
 —, —, Widerstandsfähigkeit verschiedener Sorten. 561  
 —, Kringerigheit, Untersuchung. 584  
 —, Mosaikkrankheit, Anfälligkeit verschiedener Sorten. 583  
 —, Schädigung durch *Adelphocoris rapidus*. 546  
 —, — — *Agrotis exclamationis*. 547  
 —, — — *Agrotis segetum*, Bekämpfungsmaßnahmen. 546  
 —, — — *Alternaria solani*. 553  
 —, — — *Bacillus phytophthorus*. 553  
 —, — — *Bacterium atrosepticum*. 578  
 —, — — *Bacterium sepedonicum*. 578  
 —, — — *Bacterium solanacearum*. 553. 557  
 —, — — *Bacterium solanisaprum*. 578  
 —, — — *Bacterium xanthochlorum*. 578  
 —, — — Blitz. 585  
 —, — — *Colletotrichum solanicolum*. 575  
 —, — — Engerlinge. 546. 574  
 —, — — *Epitrix cucumeris*. 546  
 —, — — *Fusarium coeruleum*. 553  
 —, — — *Fusarium eumartii*. 577  
 —, — — *Fusarium hyperoxysporum*. 577  
 —, — — *Fusarium orthoceras*. 553  
 —, — — *Fusarium oxysporum*. 577  
 —, — — *Fusarium radicola*. 577  
 —, — — *Fusarium trichothecioides*. 553  
 —, — — *Heterodera radicola*, Wirkung auf die Ernte. 545  
 —, — — *Hypochnus solani*. 553  
 —, — — Kartoffelstengelbohrer. 546  
 —, — — Koloradokäfer. 546. 547  
 —, — — *Lygus pratensis*. 546. 552  
 —, — — *Macrosiphum solanifolii*. 546  
 —, — — Pflasterkäfer. 546  
 —, — — *Phytophthora erythroseptica*. 557  
 —, — — *Phytophthora infestans*. 553  
 —, — — *Prodenia ornithogalli*. 546  
 —, — — *Psylliodes affinis*. 551  
 —, — — *Rhizoctonia*. 573  
 —, — — *Rhizoctonia*, Bekämpfungsversuche. 557  
 —, — — *Rhizoctonia violacea*. 553  
 —, — — Schnecken. 546  
 —, — — *Siphonophora solani*. 552  
 —, — — *Spongospora scabies*. 553  
 —, — — *Synchytrium endobioticum*. 553  
 —, — — Tabakwurm. 546  
 —, — — Tomatenwurm. 546  
 —, — — *Vermicularia varians*. 575  
 —, Schorf, Auftreten, Bedeutung der Düngung. 556  
 —, —, Bekämpfungsversuche mit Formaldehydbeize. 586  
 —, —, — Schwefeldüngung. 586  
 —, — durch *Actinomyces chromogenus*. 559  
 —, — — *Actinomyces scabies*. 554  
 —, — — *Oospora scabies*. 558
- Kartoffel, Schorf durch *Rhizoctonia solani*.** 558  
 —, — — *Spondylocadium atrovirens*. 558  
 —, Schwarzbeinigkeit, Auftreten, Bedeutung der Düngung. 557  
 —, — durch *Bacterium phytophthorum*. 578  
 —, Welkekrankheit durch *Verticillium*. 553. 576  
 —, Wirkung verschiedener Spritzmittel auf das Kraut. 588  
 Kartoffelbau in Amerika, Bedeutung von *Spondylocadium atrovirens*. 555  
 Kartoffelblattlaus s. *Macrosiphum solanifolii*.  
 Kartoffelerdfloh s. *Epitrix cucumeris* und *Psylliodes affinis*.  
 Kartoffelstengelbohrer, Schädling der Kartoffel. 546  
 Katalase, Nachweis in Algen. 376  
 Kelp-Algen, Bedeutung als Stickstoffdünger. 637  
 Knollenfäule der Kartoffel durch *Phytophthora arecae*. 572  
 Kohl, Assimilation von Glycerin. 199  
 —, — — Methylalkohol. 194  
 Kohlenstoffverbindungen, Assimilation durch Pflanzen. 191  
 Koloradokäfer, Auftreten in Deutschland. 547  
 —, Bedeutung in Amerika. 550  
 —, Bekämpfung mit Arsenverbindungen. 550. 551  
 —, — — Benzol. 547  
 —, natürliche Feinde. 549  
 —, Schädling der Kartoffel. 546. 547  
 Krähen, natürliche Feinde des Koloradokäfers. 549  
 Krautfäule der Kartoffel, Bekämpfung mit Bordeauxbrühe. 553. 564  
 Kreatin, Kohlenstoffquelle für Mikroorganismen. 345  
 Krebs der Kartoffel, Bekämpfungsmaßnahmen. 562  
 —, — —, Widerstandsfähigkeit verschiedener Sorten. 561  
 Kreosotöl, Wirksamkeit als Holzkonservierungsmittel. 376  
 Kringerigheit der Kartoffel, Untersuchung. 584  
 „Kuh in der Düte“, Wertlosigkeit. 602  
 Kupferbrühe, Bekämpfungsversuche gegen *Phytophthora*. 565. 569. 571
- Lachnus juglandis**, Gallenbildung an Juglans, Zellwandverholzung. 427  
 Lactose, Assimilation, durch *Monilia sitophila*. 324  
 Laevulose, Assimilation durch Bakterien. 320  
 Laub, Bakterienflora. 83. 92  
 Leguminosen, Stickstoffaufnahme und Verteilung. 638

- Lemna**, Assimilation von Glycerin. 199  
**Lepidium virginicum**, Überwinterung des Mycel von *Cystopus candidus*. 570  
 — — — — — *Peronospora parasitica*. 570  
**Leptinotarsa decemlineata**, Biologie und Bekämpfung. 549  
**Leucin**, Kohlenstoffquelle für Mikroorganismen. 339  
**Licht**, ultraviolette, bakterizide Wirkung. 615  
**Löwenmaul**, Welkekrankheit durch *Verticillium albo-atrum*. 576  
**Lonicera**, Gallenbildung durch *Siphocoryne xylostei*. 409  
 — *xylosteum*, Gallenbildung durch *Aphiden*. 413  
 — — — — — *Prociphilus xylostei*. 414  
**Lotus uliginosus**, Knöllchenbakterien, Untersuchung. 638  
**Luft**, Wirkung verschiedenen Druckes auf alkoholische Gärung. 225  
**Lupinus**-Arten, Knöllchenbakterien, Untersuchung. 637  
**Lycium**, Schädigung durch *Psylliodes affinis*. 551  
**Lygus pratensis**, Schädling der Kartoffel. 546. 552  
  
**Macrocystis pyrifera**, Bedeutung als Stickstoffdünger. 637  
**Macrosiphum solanifolii**, Schädling der Kartoffel. 546  
**Maltose**, Assimilation durch Bakterien. 323  
**Mandelsäure**, Spaltung durch *Penicillium glaucum*. 304  
**Mangan**, Wirkung auf Knöllchenbakterien. 638  
**Mangankarbonat**, Wirkung auf *Azotobacter chroococcum*. 634  
**Mannit**, Assimilation durch Pflanzen. 199  
**Marienkäfer**, natürliche Feinde des Kolonradkäfers. 549  
**Medicago**-Arten, Knöllchenbakterien, Untersuchung. 638  
**Melastoma polyanthum**, Gallenbildung durch Thripsiden. 462  
**Melilotus albus**, Knöllchenbakterien, Untersuchung. 638  
**Melkmaschine Omega**, Wert. 594  
**Melkmaschinen**, Prüfung. 541  
**Methan**, Bildung im Boden, Wirkung auf die Gründüngung. 629  
**Methylal**, Assimilation durch Bakterien. 210  
**Methylalkohol**, Assimilation durch Pilze. 193  
**Methylamin**, Assimilation durch Bakterien. 337  
**Methylenblau**, bakteriologische Untersuchung von Milch. 592  
**Micrococcus roseus**, Vorkommen auf Stroh. 18  
  
**Micrococcus subcandicans** n. sp., Nachweis im Genfer See. 611  
 — *ureae*, Harnstoffzersetzung. 642  
**Mikroorganismen**, Nitrifikationsvermögen. 632  
**Milch**, Alkoholprobe, Wert. 542  
 —, Backhaus-, bakteriologische Untersuchung. 396  
 —, —, Herstellung. 386  
 —, Bakterienflora, Wirkung benutzten Mühlenstaubs. 141. 146  
 —, —, — benutzter Schwarzkstreu. 63  
 —, —, — — Streu. 35  
 —, —, — von Mühlenstaub. 141. 146  
 —, —, — frischer Schwarzkstreu. 65. 76  
 —, —, — frischen Strohs. 27. 38  
 —, —, — benutzter Laubstreu. 98. 106  
 —, —, — — Sägemehlstreu. 120. 127  
 —, —, — von benutzter Torfstreu. 163. 169  
 —, —, — frischer Laubstreu. 101. 109  
 —, —, — von Sägemehl. 122. 130  
 —, bakteriologische Untersuchung. 179  
 —, — — erhitzter. 591  
 —, — — mit Methylenblau. 592  
 —, Bedeutung für die Verbreitung der Tuberkulose. 600  
 —, Biorisation, Untersuchung. 588  
 —, Enzyma-, bakteriologische Untersuchung. 400  
 —, —, Herstellung. 388  
 — zur Ernährung cholerakranker Hühner. 595  
 —, Gelbfärbung durch Bakterien. 598  
 —, kondensierte, bakteriologische Untersuchung. 544. 595  
 —, Pasteurisierung, Untersuchung. 591  
 —, Peroxydasewirkung, Bedeutung der Temperatur. 597  
 —, Säurebildung, Bedeutung von *Streptococcus lacticus*. 598  
 —, sterilisierte, bakteriologische Untersuchung. 394  
 —, —, Wirkung benutzter Laubstreu. 97. 105  
 —, —, — benutzten Mühlenstaubs. 141. 146  
 —, —, — benutzter Sägemehlstreu. 119. 126  
 —, —, — — Schwarzkstreu. 61. 70  
 —, —, — von benutzter Torfstreu. 163. 169  
 —, —, — frischer Laubstreu. 102. 110  
 —, —, — — Schwarzkstreu. 67. 72. 78  
 —, —, — frischen Strohs. 29. 40  
 —, —, — von Sägemehl. 124. 131  
 —, Streptokokken, pathogene Wirkung. 599  
 —, Uviol-, bakteriologische Untersuchung. 398  
 —, —, Herstellung. 387  
 —, Verunreinigung, Nachweis, bakteriologische Probe. 543

- Milch, Vorkommen von *Bacillus aerogenes capsulatus*. 596  
 —, — — *Streptococcus*. 599  
 —, Wirkung benutzter Streu. 25. 33  
 Milchsäure, Abtötung von Bakterien. 596  
 —, Assimilation durch Pflanzen. 221  
 —, Spaltung durch *Saccharomyces ellipsoideus*. 304  
*Monanthia echii*, Gallenbildung an *Anchusa officinalis*. 411  
 Mosaikkrankheit der Kartoffel, Anfälligkeit verschiedener Sorten. 583  
 Mühlenstaub, Bakterienflora. 137  
*Mycoderma variabilis*, Vorkommen im Sauerkohl. 540  
*Myzus ribis*, Gallenbildung an *Ribes*, Veränderung der Transpiration. 444
- Nelke, Stengelfäule durch *Rhizoctonia*. 574  
*Nereocystis luetkeana*, Bedeutung als Stickstoffdünger. 637  
 Nitranilin, Stickstoffquelle für Mikroorganismen. 343  
 Nitrifikation im Boden, Wirkung von Anionen. 630  
 Nitrifikationsvermögen saurer Böden. 631  
 Nitrit, Bildung durch *Actinomyces oligocarbophilus*. 637  
 Norwegen, Auftreten von *Synchytrium endobioticum*. 556
- Oidium lactis*, Wirkung von Salz auf das Wachstum. 604  
*Oospora lacustris* n. sp., Nachweis im Genfer See. 611  
 — *scabies*, Erreger des Kartoffelschorfs. 558  
 Ortizon, Herstellung von Trinkwasser. 617  
 Oxydasen, Nachweis in Algen. 376  
 Ozon und Alaun, Reinigung von Wasser. 618
- Panax quinquefolium*, Welkekrankheit durch *Acrostalagmus*. 576  
 Pappel, Gallenbildung durch *Rhinocola speciosa*. 489  
 Paraoxybenzoesäure, Assimilation durch Schimmelpilze. 302  
 Pasteurisierung der Milch, Untersuchung. 591  
*Pediococcus acidi lactici*, Vorkommen im Sauerkohl. 540  
*Pelagophycus porra*, Bedeutung als Stickstoffdünger. 637  
*Pemphigus*, Gallenbildung an *Pistacia atlantica*. 449  
 —, — — *Pistacia terebinthus*. 410  
 — *affinis*, Gallenbildung an *Populus*. 404  
 — —, — — *Populus*, Chlorophyllmangel. 428  
 — *bursarius*, Gallenbildung, Fehlen mechanischer Gewebe. 442
- Pemphigus bursarius*, Gallenbildung an *Pistacia*, Veränderungen der Gefäßbündel. 444  
 —, — — *Populus pyramidalis*, Veränderung der Atmung. 445  
 — *cornicularius*, Gallenbildung, Untersuchung. 413  
 — *ovatooblongus*, Gallenbildung an Ulme. 491  
 — *riccobosii*, Gallenbildung an *Pistacia atlantica*. 450  
 — *semilunarius*, Gallenbildung an *Pistacia*, Behaarung. 439  
 — *spirothecae*, Gallenbildung, Fehlen mechanischer Gewebe. 442  
 — —, — an *Populus*. 409  
*Penicillium brevicaulis*, Durchdringen von Eierschalen. 538  
 — *digitatum*, Wirkung von Salz auf das Wachstum. 604  
 — *duclauxi*, Wirkung von Salz auf das Wachstum. 604  
 — *glaucum*, Durchdringen von Eierschalen. 538  
 — —, Kulturversuche auf benzoëssäurehaltigen Nährböden. 537  
 — —, Vorkommen in Laubstreu. 85  
 — *luteum*, Wirkung von Salz auf das Wachstum. 604  
 — *pyophilum*, Wirkung von Salz auf das Wachstum. 604  
 — *purpurogenum*, Wirkung von Salz auf das Wachstum. 604  
 — *roqueforti*, Vorkommen im Roquefortkäse. 607  
 — *roseum*, Wirkung von Salz auf das Wachstum. 604  
*Peronospora ficariae*, Überwinterung von Mycel auf *Ranunculus fascicularis*. 570  
 — —, — — — — *Ranunculus ficaria*. 570  
 — *parasitica*, Überwinterung von Mycel auf *Lepidium virginicum*. 570  
 — *viciae*, Überwinterung von Mycel auf *Vicia sepium*. 570  
 Peroxydase, Wirkung der Milch, Bedeutung der Temperatur. 597  
*Perrisia filicina*, Gallenbildung an *Pteris*. 474
- Pflanzen, Assimilation von Kohlenstoffverbindungen. 191  
 —, — — Mannit. 199  
 —, — — Milchsäure. 221  
 —, Bakterienflora von Blättern. 83. 92  
 —, Blattlausgallen, Verteilung der Stiche. 498  
 —, Blattrollgallen, Entwicklungsmechanik. 471  
 —, Gallen, Bedeutung des Entwicklungsstadiums des Blattes. 486  
 —, —, Bildung von Riesenzellen. 430  
 —, —, Chlorophyllmangel. 428  
 —, —, Definition. 530  
 —, —, Kristalldrüsen. 429

- Pflanzen, Gallen, Mangel an Spaltöffnungen. 439  
 —, —, Trichome. 439  
 —, —, Veränderung der Epidermis. 436  
 —, —, Veränderungen der Gefäßbündel. 443  
 —, wachstumsfördernde Stoffe. 645  
 —, Welken, Bedeutung der Transpiration und des Wassergehalts des Bodens. 628  
 Pflasterkäfer, Schädling der Kartoffel. 546  
 Phaseolus multiflorus, Assimilation von Äthylalkohol. 196  
 Phenol, Assimilation durch Bakterien. 200  
 Phenyllessigsäure, Wirkung auf Spirogyra. 303  
 Phlomis samia, Gallenbildung durch Eri-  
 neum, Deformation der Haare. 441  
 Phyllocoptes teucii, Gallenbildung an  
 Teucrium. 474  
 Phytophthora, Bekämpfung mit Bordeaux-  
 paste. 565  
 —, Bekämpfungsversuche mit Kupfer-  
 brühen. 565. 569. 571  
 — arecae, Erreger der Knollenfäule der  
 Kartoffel. 572  
 — erythroseptica, Auftreten in Holland. 557  
 — —, Cytologie. 571  
 — —, Schädling der Kartoffel. 557  
 — infestans, Durchdringen von Eierscha-  
 len. 538  
 — —, Keimungs- und Infektionsversuche. 567  
 — —, Schädling der Kartoffel. 553  
 — —, Temperaturoptimum. 568  
 — —, Überwinterung. 570  
 Picea excelsa, Gallenbildung durch Adelges  
 abietis, chemische Untersuchung. 413  
 Pilze, Assimilation von Äthylenglykol. 199  
 —, — — Dulcit. 199  
 —, — — Methylalkohol. 193  
 —, — — Zitronensäure. 223  
 —, Schimmel-, Durchdringen von Eier-  
 schalen. 538  
 —, —, Vorkommen in Laubstreu. 84—91  
 —, —, — — Riedstreu. 81  
 —, —, — an Schwarzstreu. 46. 47. 52—55  
 —, —, — — Stroh. 10. 13. 16  
 Piper betle, Gallenbildung durch Gynaiko-  
 thrips chavicae, Reduktion der mecha-  
 nischen Gewebe. 443  
 — sarmentosum, Gallenbildung durch Gy-  
 naikothrips pallipes. 463  
 Pirus malus, Gallenbildung durch Aphis  
 oxyacanthae. 415  
 — —, — — Aphis pomi. 415  
 Pistacia, Gallenbildung durch Pemphigus  
 bursarius, Veränderungen der Gefäß-  
 bündel. 444  
 —, — — Pemphigus semilunarius, Be-  
 haarung. 439  
 — atlantica, Gallenbildung durch Pemphi-  
 gus. 449  
 — —, — — Pemphigus riccobosii. 450  
 Pistacia terebinthus, Gallenbildung durch  
 Pemphigus. 410  
 Pisum arvense, Knöllchenbakterien, Un-  
 tersuchung. 638  
 Planosarcina ureae, Harnstoffzersetzung. 642  
 Plasmopara halstedii, Überwinterung von  
 Mycel auf Helianthus diversicatus. 570  
 Populus, Gallenbildung durch Pemphigus  
 affinis. 404  
 —, — — Pemphigus affinis, Chlorophyll-  
 mangel. 428  
 —, — — Pemphigus spirothecae. 409  
 — nigra, Gallenbildung durch Rhinocola  
 speciosa. 450  
 — pyramidalis, Gallenbildung durch  
 Pemphigus bursarius, Veränderung der  
 Atmung. 445  
 Prociphilus nidificus, Gallenbildung an  
 Fraxinus excelsior. 414  
 — —, — — — —, Kernhypertrophie. 424  
 — xylostei, Gallenbildung an Lonicera  
 xylosteum. 414  
 Prodenia ornithogalli, Schädling der Kar-  
 toffel. 546  
 Propionsäure, Assimilation durch Bak-  
 terien. 221  
 Propylalkohol, Assimilation durch Bak-  
 terien. 196  
 Propylamin, Assimilation durch Bakterien. 337  
 Protium javanicum, Gallenbildung durch  
 Cocciden. 450  
 Prunus domesticus, Gallenbildung durch  
 Aphiden. 414  
 Pseudomonas, Zugehörigkeit von Bac-  
 terium calcis. 645  
 — cordonensis n. sp., Nachweis im Genfer  
 See. 611  
 — dufourei n. sp., Nachweis im Genfer  
 See. 611  
 — forelii n. sp., Nachweis im Genfer See. 611  
 — lenderi n. sp., Nachweis im Genfer See. 611  
 — rhodanensis n. sp., Nachweis im Genfer  
 See. 611  
 — rollensis n. sp., Nachweis im Genfer  
 See. 611  
 — rubro lutea n. sp., Nachweis im Gen-  
 fer See. 611  
 Psylliodes affinis, Biologie. 551  
 — —, Schädling von Hyoscyamus. 551  
 — —, — — Kartoffel. 551  
 — —, — von Lycium. 551  
 Pteris, Gallenbildung durch Perrisia fili-  
 cina. 474  
 Quercus ilex, Gallenbildung durch Eri-  
 neum, Deformation der Haare. 441  
 Raffinose, Assimilation durch Monilia  
 sitophila. 323

- Ranunculus fascicularis*, Überwinterung des Mycels von *Peronospora ficariae*. 570  
 — *ficariae*, Überwinterung des Mycels von *Peronospora ficariae*. 570  
*Raphanus sativus*, Stickstoffbindung, Untersuchung. 637  
 Reisfelder, Bodengase, Untersuchung. 629  
 Resorcin, Assimilation durch Schimmelpilze. 201  
 Rhamnose, Assimilation durch Bakterien. 322  
*Rhinocola speciosa*, Gallenbildung an *Populus nigra*. 450. 489  
*Rhizoctonia*, Erreger der Stengelfäule der Nelken. 574  
 —, Schädling der Kartoffel. 573  
 —, — —, Bekämpfungsversuche. 557  
 — *solani*, Beziehung zu *Corticium vagum* var. *solani*. 574  
 — —, Erreger des Kartoffelschorfs. 558  
 — *violacea*, Schädling der Kartoffel. 553  
*Rhizopus arrhizus*, Beschreibung. 378  
 — *batatas*, Beschreibung. 378  
 — *chinensis*, Beschreibung. 378  
 — *japonicus*, Beschreibung. 378  
 — *kasanensis*, Beschreibung. 377  
 — *nigricans*, Beschreibung. 377  
 — *nodosus*, Beschreibung. 377  
 — *oryzae*, Beschreibung. 378  
 — *tonkinensis*, Beschreibung. 378  
 — *tritici*, Beschreibung. 377  
 — *trubini*, Beschreibung. 377  
 — *usamii*, Beschreibung. 377  
*Rhododendron ferrugineum*, Gallenbildung durch *Eriophyes alpestris*. 482  
*Ribes*, Gallenbildung durch *Myzus ribis*, Veränderung der Transpiration. 444  
 Rindertuberkulose, Bedeutung. 594  
 Rohrzucker, Assimilation durch *Spirogyra*. 314  
 Runkelrübe, Gallenbildung durch *Aphis papaveris*. 411  
  
*Saccharomyces brassicae fermentatae* n. sp., Vorkommen im Sauerkohl. 540  
 — *fragrans*, Assimilation verschiedener Zuckerarten. 317  
 — *panis fermentati* n. sp., Beschreibung. 541  
 Säuren, organische, Zersetzung durch Bakterien. 307  
 Sahne, Pasteurisierung zur Butterbereitung. 602  
 Salicylsäure, Assimilation durch Bakterien. 301  
*Salix alba*, Gallenbildung durch *Aphis amenticola*. 410  
 Salpeterbildner, Anhäufungskulturen, Auftreten von *Actinobacillus oligocarophilus* und *A. paulotrophus*. 634  
 Salz, Wirkung auf das Wachstum von Mikroorganismen. 604  
  
*Sarcinen*, Vorkommen in Milch. 180  
 —, — im Mühlenstaub. 137  
 —, — an Stroh. 9. 10. 15. 17  
 —, — in Torfstreu. 159  
 Sauerkraut, Herstellung, biologische Vorgänge. 540  
 Sauerstoff, Bedeutung für Wachstum und Harnspaltung der Harnstoffvergärer. 284  
 Schafkäse, bakteriologische Untersuchung. 604  
 Schimmelpilze, Assimilation von Gallussäure. 202  
 —, — — Resorcin. 201  
 —, — — Tannin. 202  
*Schizoneura*, Gallenbildung an *Ulmus*. 424  
*Schizosaccharomyces octosporus*, Assimilation verschiedener Zuckerarten. 317  
 Schnecken, Schädlinge der Kartoffel. 546  
 Schorf der Kartoffel, Auftreten, Bedeutung der Düngung. 556  
 — — —, Bekämpfungsversuche mit Formaldehydbeize. 586  
 — — —, — — Schwefeldüngung. 586  
 — — — durch *Actinomyces chromogenus*. 559  
 — — — — *Actinomyces scabies*. 554  
 — — — — *Oospora scabies*. 558  
 — — — — *Rhizoctonia solani*. 558  
*Schoutenia ovata*, Gallenbildung durch Aphiden. 411  
 Schwarzbeinigkeit der Kartoffel, Auftreten, Bedeutung der Düngung. 557  
 — — —, durch *Bacterium phytophthorum*. 578  
 Schwarzstreu, Bakterienflora. 43. 57  
 Schweden, Kartoffelkrankheiten. 553  
 Schwefel, Konservierung von Kartoffeln in Mieten, Versuche. 586  
 Schwefeldüngung, Bekämpfungsversuche gegen Blattrollkrankheit der Kartoffel. 586  
 —, — — Kartoffelschorf. 586  
*Serradella*, Knöllchenbakterien, Untersuchung. 639  
*Siphocoryne xylostei*, Gallenbildung an *Lonicera*. 409  
*Siphonophora solani*, Schädling der Kartoffel. 552  
 Sojabohne, Varietäten, Unterschiede der Knöllchenbakterien. 639  
 Sorbin, Assimilation durch Bakterien. 323  
*Spatholobus litoralis*, Gallenbildung durch *Cryptothrips fuscipennis*. 463  
 — — — — —, Reduktion der mechanischen Gewebe. 442  
*Sphaerotilus natans*, Entwicklung, Begünstigung durch fäulnisfähige organische Stoffe. 620  
*Spirogyra*, Wirkung von Phenyllessigsäure. 303  
 — *setiformis*, Wirkung von Chinasäure. 302  
*Spondylocodium atrovirens*, Bedeutung für den Kartoffelbau in Amerika. 555



- Spongospora scabies*, Schädling der Kartoffel. 553  
 — *subterranea*, Auftreten in Holland. 556  
 — —, Biologie. 558  
 Stallmist, Düngungsversuche. 647  
*Stellaria*, Gallenbildung durch Thysanopteren. 422  
 Stengelfäule der Nelken durch Rhizoctonia. 574  
 Stickstoff, anorganische Verbindungen, Eiweißbildung durch Hefe. 377  
 —, Bindung im Boden, Bedeutung des Wassergehaltes. 632  
 —, — durch *Raphanus sativus*, Untersuchung. 637  
 —, Düngung, Bedeutung der Kelp-Algen. 637  
 —, Sammlung im Boden, Bedeutung des Ackersenss und Hederichs. 640  
 —, Umsetzungen im Boden. 631  
 —, — Hochmoorboden, Wirkung von Kalkdünger. 643  
 —, — in Jauche. 647  
 —, Verluste, Verhütung. 245  
 —, Wirkung verschiedener Dünger. 644  
*Streptococcus*, Fermentation verschiedener Zuckerarten, Wert für die Systematik. 376  
 —, Vorkommen in Milch. 599  
 — *lacticus*, Bedeutung für die Säurebildung in Milch. 598  
 — —, Variabilität. 599  
 — —, Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen. 592  
 Streptokokken der Milch, pathogene Wirkung. 599  
 — Mastitis, Bekämpfung. 600  
 Stroh, Bakterienflora. 7. 20. 21  
*Synchytrium endobioticum*, Auftreten in Norwegen. 556  
 — —, Schädling der Kartoffel. 553  
 Tabakwurm, Schädling der Kartoffel. 546  
 Tannin, Assimilation durch Schimmelpilze. 202  
*Tetragonolobus purpurea*, Knöllchenbakterien, Untersuchung. 638  
*Tetraneura*, Gallenbildung an *Ulmus*. 424  
 — *ulmi*, Gallenbildung an Ulmen, Mangel an Spaltöffnungen. 439  
*Teucrium*, Gallenbildung durch Heteropteren, Deformation der Haare. 441  
 —, — *Phylloctes teucii*. 474  
 Thripsiden, Gallenbildung an *Eugenia polyantha*. 450  
 —, — *Melastoma polyanthum*. 462  
 Thysanopteren, Gallenbildung an *Stellaria*. 422  
 —, — *Vicia cracca*. 450  
*Tilia silvestris*, Gallenbildung durch *Eriophyes tetranichus*. 479  
 — —, — —, Anatomie. 462  
 — —, — *Tiliam wolvens*. 468  
 Tomate, Schädigung durch *Bacillus solanacearum*. 557  
 Tomatenwurm, Schädling der Kartoffel. 546  
 Torfstreu, Bakterienflora. 158. 159  
 Traubenzucker, Assimilation durch Hefe. 318  
 —, — — Pflanzen. 318  
*Trigonella foenum graecum*, Knöllchenbakterien, Untersuchung. 638  
 Trimethylamin, Stickstoffquelle für Pilze. 338  
 Trockenmilch, bakteriologische Untersuchung. 602  
 Tuberkulose, Verbreitung, Bedeutung der Milch. 600  
 Ulme, Gallenbildung durch *Pemphigus ovatooblongus*. 491  
 —, — *Tetraneura ulmi*, Mangel an Spaltöffnungen. 439  
*Ulmus*, Gallenbildung durch *Schizoneura*. 424  
 —, — *Tetraneura*. 424  
 Urin, Konservierung mit *Bacillus cucumeris fermentati*. 646  
*Urobacillus pasteurii*, Harnstoffzersetzung. 642  
*Urobacterium beijerinckii*, Harnstoffzersetzung. 642  
 — *duclauxii*, Harnstoffzersetzung. 642  
 — *freudenreichii*, Harnstoffzersetzung. 642  
 — *miquelii*, Harnstoffzersetzung. 642  
*Uropoda americana*, natürlicher Feind des Koloradokäfers. 549  
*Uviolmilch* s. Milch-, Uviol.  
*Vaccinium uliginosum*, Gallenbildung durch Dipteren. 470  
*Vermicularia varians*, Schädling der Kartoffel. 575  
*Verticillium*, Erreger der Welkekrankheit der Kartoffel. 553. 576  
 — *alboatrum* (?), Erreger der Welkekrankheit der Baumwollstaude. 576  
 — —, — — des Eibisch. 576  
 — —, — — der Eierpflanze. 576  
 — —, — — des Löwenmaul. 576  
 — —, Schädling von *Abutilon*. 576  
 — —, — *Xanthium*. 576  
 — *dahliae*, Erreger der Welkekrankheit der Dahlia. 576  
*Vibrio cholerea*, Nachweis im Wasser. 609  
*Vicia cracca*, Gallenbildung durch Thysanopteren. 450  
 — *sativa*, Knöllchenbakterien, Untersuchung. 638  
 — *sepium*, Überwinterung des Mycel von *Peronospora viciae*. 570  
*Vitis lanceolaria*, Gallenbildung durch *Gynaikothrips viticola*. 457

- |  |      |  |      |
|--|------|--|------|
| Wasser, bakteriologische Untersuchung, Methodik.         | 608  | Welkekrankheit der Baumwollstaude durch <i>Verticillium alboatrum</i> (?). | 576  |
| —, —, chemische und biologische Untersuchung, Praktikum. | 608  | — — Dahlia durch <i>Verticillium dahliae</i> .                             | 576  |
| —, Brau-, biologische Untersuchung, Methodik.            | 535  | — des Eibisch durch <i>Verticillium alboatrum</i> .                        | 576  |
| —, Gehalt an <i>Bacillus coli</i> -Arten, Veränderung.   | 612  | — der Eierpflanze durch <i>Verticillium alboatrum</i> .                    | 576  |
| —, Reinigung mit Ozon und Alaun.                         | 618  | — — Kartoffel durch <i>Verticillium</i> .                                  | 553. |
| —, Sterilisation, Rheinsches Verfahren.                  | 612  | — des Löwenmaul durch <i>Verticillium alboatrum</i> .                      | 576  |
| —, Trink-, Bereitung im Felde.                           | 612  | — von <i>Panax quinquefolium</i> durch <i>Acrostalagmus</i> .              | 576  |
| —, —, Herstellung mit Desazon.                           | 613. | Xanthium, Schädigung durch <i>Verticillium alboatrum</i> .                 | 576  |
| —, —, — — Hypochlorite.                                  | 617  | Zitronensäure, Assimilation durch Pilze.                                   | 223  |
| —, —, — — Ortizon.                                       | 617  | —, — — <i>Saccharomyces zopfii</i> .                                       | 303  |
| —, Vermehrung stickstoffbindender Bakterien.             | 632  |  |      |
| Wein, Bitterwerden, Bedeutung des Säuregrades.           | 536  |  |      |
| Weinsäure, Assimilation durch Bakterien.                 | 222  |  |      |
| —, — — <i>Saccharomyces zopfii</i> .                     | 303  |  |      |

### III. Verzeichnis der Abbildungen.

- |   |               |  |                             |
|---|---------------|--|-----------------------------|
| Apfelbaum, Faltung der Blätter in den Knospen.  | 482           | <i>Fraxinus</i> , Gallenbildung durch <i>Prociphilus</i> , Deformation der Trichome. | 440                         |
| —, Gallenbildung durch <i>Aphis pomi</i> , Blattquerschnitte.                                   | 421. 423. 521 | —, — — <i>Prociphilus</i> , Zellkern-Deformation.                                    | 425                         |
| <i>Aphis oxyacanthae</i> , Gallenbildung, Veränderung des Blattgewebes.                         | 434. 459      | Gärung, Alkohol-, Wirkung des Barometerstandes (Kurven).                             | 226. 227                    |
| <i>Bacillus coli</i> , Gasbildung unabhängig vom Ort der Bakterienkolonien, Versuchsanordnung.  | 237           | Gasdruck an gekrümmten Oberflächen.  | 235                         |
| Blattlausgallen, Entwicklungsmechanik.  | 475           | <i>Lonicera</i> , Blattlausgallen, Veränderungen des Blattgewebes.                   | 460. 461                    |
| —, Stichkanäle.   | 495. 496. 524 | <i>Prociphilus xylostei</i> , Gallenbildung, Veränderung der Oxalatkristalle.        | 429. 430                    |
| <i>Fraxinus</i> , Gallenbildung durch <i>Prociphilus</i> , anatomische Veränderung der Blätter. | 457. 464—466  | <i>Prunus domestica</i> , Blattlausgallen, anatomische Veränderungen der Blätter.    | 435. 436. 438. 450—454. 456 |

### IV. Neue Literatur.

378. 648.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt



**THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE  
STAMPED BELOW**

**AN INITIAL FINE OF 25 CENTS**

**WILL BE ASSESSED FOR FAILURE TO RETURN  
THIS BOOK ON THE DATE DUE. THE PENALTY  
WILL INCREASE TO 50 CENTS ON THE FOURTH  
DAY AND TO \$1.00 ON THE SEVENTH DAY  
OVERDUE.**

Book Slip-10m-8,'51(6813s4)458



81932		QR1
zen. f. bakt.		Z4
		Abt.2
		v.47

2000

QR1

Z4

Abt.2

v.47

81932

